

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ В ХИМИИ И ЖИЗНИ

Сборник тезисов докладов Международной
конференции
Минск, 25—26 июня 2015 г.

FREE RADICALS IN CHEMISTRY AND LIFE

Book of Abstracts of the International Conference
Minsk, June 25—26, 2015

Минск
Издательский центр БГУ
2015

УДК 577.334(06)+544.431.15(06)

ББК 28.072я431+24.5я431

С25

Редакционная коллегия:

О. И. Шадыро (отв. ред.), д-р хим. наук (БГУ);

В. А. Прокашева, канд. физ.-мат. наук (БГУ);

В. Ф. Гореньков, д-р фармацевт. наук (БГУ);

Г. Н. Семенкова, канд. биол. наук (БГУ);

А. Г. Лисовская, канд. хим. наук (БГУ);

А. А. Сладкова, канд. хим. наук (БГУ);

С. Н. Самович, канд. хим. наук (БГУ)

Организационный комитет конференции «Свободные радикалы в химии и жизни» выражает благодарность УП «АДАНИ», ОО «КАМПИЛАБ», РУП «Белмедпрепараты», ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов», ООО «Фармтехнология», СП ООО «Фармленд» и ООО «MED-INTERPLAST», оказавшим помощь в проведении конференции и издании сборника.

Свободные радикалы в химии и жизни : сб. тез. докл.

С25 **Междунар. конф., Минск, 25—26 июня 2015 г. = Free Radicals in Chemistry and Life : Book of Abstracts of the International Conference, Minsk, June 25—26, 2015. — Минск : Изд. центр БГУ, 2015. — 179 с.**

ISBN 978-985-553-292-8.

В сборнике представлены тезисы докладов ученых Республики Беларусь и зарубежных стран. В материалах содержатся данные по закономерностям свободнорадикальных процессов в биосистемах и их роли при функционировании организма в нормальных и стрессовых условиях.

Сборник представляет интерес для широкого круга специалистов, занимающихся изучением молекулярных основ жизнедеятельности и патогенеза, созданием новых лекарств и биологически активных добавок.

УДК 577.334(06)+544.431.15(06)

ББК 28.072я431+24.5я431

ISBN 978-985-553-292-8

© БГУ, 2015

© Оформление. РУП «Издательский центр БГУ», 2015

DEVELOPING EXPERIMENTAL CAPABILITY FOR INVESTIGATION OF FREE RADICAL PROCESSES UNDER LIGHT WATER REACTOR OPERATING CONDITIONS

Baidak A.^{1,2}, Duff J.³, Sims H.⁴, Parker-Quaife E.^{1,2}, Pimblott S.M.^{1,2}

¹ University of Manchester, Dalton Cumbrian Facility,

Westlakes Science & Technology Park, Moor Row, Cumbria, CA28 3HA

² University of Manchester, School of Chemistry, Oxford Road, Manchester, M13 9PL

³ University of Manchester, School of Materials, Oxford Road, Manchester, M13 9PL

⁴ National Nuclear Laboratory, Harwell Science Park, Didcot, Oxon OX11 0QT, UK

Water radiolysis at extreme conditions of high temperature and high pressure (HTHP) is an important issue in a number of areas in nuclear reactor technology, especially in the high temperature corrosion of structural materials in the primary circuit of Light Water Reactors (LWRs), which is noticeably enhanced by the oxidizing radical products of water radiolysis. Mitigation of the detrimental effects of water radiolysis on reactor's structural components promotes the long-term viability of water-cooled nuclear systems. In addition, the choice of promising materials for the next generation of nuclear reactors will rely on the fundamental understanding of the radiation chemical processes in water under extreme conditions of high heat, pressure and mixed radiation fields.

Direct examination of the free radical processes in nuclear reactor cores is extremely difficult due to the intense mixed radiation fields and HTHP [1]. One way to circumvent these limitations is to design an experiment in which water (or aqueous solution) under study is irradiated in the high temperature/high pressure conditions using conventional radiation sources. In my talk I will describe the design of experimental capability dedicated to the study of radical processes arising from the radiolysis in HTHP flowing water using either gamma (Co-60) or proton beam irradiation.

In the heart of our experimental setup is a recirculation loop that is capable of maintaining water inside the irradiation cell (autoclave) at temperatures up to 350°C and pressures up to 200 atm. Essentially, the flow system consists of a feed tank with aqueous solution under study, low and high pressure loops with associated pumps, a preheater, an autoclave and a cooler. Water chemistry control is of a great importance, hence, the automated data acquisition system continuously monitors pressure, temperature, dissolved hydrogen and dissolved oxygen content and water conductivity before and after irradiation. The water chemistry can be easily modified by saturation/doping with the additives of interest, such as hydrogen, oxygen or ionic species.

During water radiolysis a number of radical transients and molecular products are formed, as shown by simplified Equation 1:



The “yields” of radical species ($\text{e}^-_{\text{aq}}, \cdot\text{OH}, \cdot\text{H}$) are functions of time because their diffusive escape is in competition with recombination processes. At room temperature within about a microsecond the recombination reactions are completed, while the surviving radicals can be measured with appropriate scavengers as an “escape yield”. Scavenged yields of major radical products formed during water radiolysis at room temperature are well established. However, radiation chemical yields and reaction rates of primary radicals in the radiolysis of water above 300°C are either not measured at all or inconsistent; current reactor models include calculations based on extrapolated data [2].

Our first experiments will target radiation chemical yields for the free radicals $\cdot\text{H}$ and e^-_{aq} [3]. Corresponding G values will be determined for low and high linear energy transfer (LET) types of radiation using, respectively, gamma and ion beam radiolysis. Water radiolysis in a wide range of high temperature and pressure conditions (up to 350°C and 200 atm) will be performed. N_2O and ethanol- d_5 will be used to scavenge e^-_{aq} and $\cdot\text{H}$, respectively. Very sensitive mass spectroscopy technique (or its combination with gas chromatography) will be employed to measure N_2 , HD, H_2 or O_2 formed either as stable products of water radiolysis ($\text{H}_2, \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2$) or as the products of scavenging reactions ($\text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2, \text{C}_2\text{D}_5\text{OH} \rightarrow \text{HD}$).

Preliminary data will be used to demonstrate that the described rig can be successfully employed to study free radical processes in aqueous systems at HTHP conditions. The importance of the radiolysis experiments in water at HTHP is hard to underestimate: described studies will produce essential thermodynamic and kinetic data that will aid in development of models relevant to nuclear reactor water chemistry behavior.

References:

1. Edwards, E. J. et al. *Review of Scientific Instruments*, 78, 2007, 124101-1–124101-11.
2. Guzonas, D. et al. *Nuclear Technology*, 179, 2012, 205-218.
3. Janik, D et al. *J. Phys. Chem. A*, 111, 2007, 7777-7786.

HOW DO ANAEROBIC SULFATE-REDUCING BACTERIA COPE WITH OXIDATIVE STRESSES?

Byukhanov A.L.^{1,2}, Pimenov N.V.², Dolla A.³

¹*Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Moscow, Russia*

²*Winogradsky Institute of Microbiology, Moscow, Russia*

³*Laboratoire de Chimie Bactérienne, CNRS, Marseille, France*

Sulfate-reducing bacteria (SRB) are traditionally considered as strict anaerobic microorganisms. But there are a lot of data up to date about survival and metabolic activity of SRB in biotopes periodically exposed to oxygen (sea waters, cyanobacterial mats, activated sludge, shallow water sediments, wastewater biofilms, etc.). SRB represent a diverse group of prokaryotes, which gain energy by coupling the oxidation of great variety of low-molecular mass organic compounds or molecular hydrogen to reduction of sulfate (SO_4^{2-}) to sulfide.

In the case of anaerobic microorganisms, the toxicity of oxygen is a combination of at least three factors. The main factor is the action of products of oxygen incomplete reduction so called the reactive oxygen species (ROS) – superoxide anion radical ($\text{O}_2^{\cdot-}$), hydrogen peroxide (H_2O_2) and hydroxyl radical (HO^{\cdot}). The main targets of ROS are nucleic acids, lipids and proteins. Secondly, the high redox potential induced by the presence of O_2 represents an additional reason restricting the availability of anaerobes in oxygenated environments because of displacement of thermodynamic equilibrium and the following failure of metabolic processes with initiation of adverse reactions. Finally molecular oxygen is able to directly inactivate key enzymes of sulfate reduction metabolism, for instance, hydrogenases and lactate dehydrogenase.

SRB have thus developed complicated, highly effective and tightly regulated systems of behavioral and enzymatic mechanisms of antioxidative defense which are responsible for a relative aerotolerance of the majority of SRB. Behavioral responses to oxygen include cell aggregation, symbiotic relationships with aerobic microorganisms, migration to anoxic zones and aerotaxis. Enzymatic mechanisms often involve O_2 elimination that uses cytoplasmic, periplasmic and membrane-bound oxygen reduction chains containing rubredoxin : oxygen oxidoreductase, cytochrome *c* oxidase and quinol *bd* oxidase. So many SRB not only survive oxygen exposure for at least several days, but some of them even reduce O_2 to H_2O . In addition to classical enzymes of ROS scavenging (superoxide dismutase, heme monofunctional catalase, peroxidases) which are usual for aerobic microorganisms and eukaryotes, SRB, and specially *Desulfovibrio* species, possess also unique alternative nonheme iron proteins with superoxide reductase (desulfoferrodoxin,

neelaredoxin) and NADH-dependent peroxidase (rubrerythrin, nigerythrin) enzymatic activities. The main advantage of these alternative systems is the lack of production of oxygen during the catalytic cycles.

Comparison of the sensitivity of Δsor and Δsod mutants of *Desulfovibrio vulgaris* Hildenborough to various oxidative stresses indicates that under fully aerated conditions, cytoplasmic superoxide reductase (SOR) is the key oxygen defense enzyme. Superoxide dismutase (SOD) is involved in the removal of $O_2^{\cdot -}$ in the periplasm under microaerophilic conditions to protect oxygen-sensitive enzymes. SOR and SOD are thus complementary components of an efficient superoxide-scavenging cellular system.

Little data has been accumulated on the regulation of oxidative stress mechanisms in strict anaerobic microorganisms; nevertheless some of them possess enzymes, which are induced under unfavorable oxic conditions. The global expression levels of oxidative stress response genes in *D. vulgaris* Hildenborough differ depending on ROS nature, concentration and exposure time. Coordinated up-regulation of the genes belonged to predicted peroxide stress response regulon (PerR) was observed in response to low H_2O_2 levels (0.1 mM). In contrast, stronger H_2O_2 stress (0.3 mM) was highly detrimental to the cell viability and caused dramatic changes at the transcriptome level. Transcripts analyses revealed that key genes of antioxidative defense encoding a superoxide dismutase (*sodB*), a superoxide reductase (*dfx*), two rubrerythrins (*rbr1* & *rbr2*), a nigerythrin (*ngr*), a thiol peroxidase (*tpx*) and an alkyl hydroperoxide reductase (*ahpC*), in addition to the PerR regulon, belong to the H_2O_2 stimulon. A global transcriptomic analysis pointed out that H_2O_2 as well as redox potential shift increased the expression of the genes of *D. vulgaris* involved in ROS detoxification, thioredoxin-dependent reduction system and DNA repair, and decreased those involved in sulfate reduction, lactate oxidation and protein synthesis.

References:

1. Brioukhanov A.L., Durand M.C., Dolla A., Aubert C. Response of *Desulfovibrio vulgaris* Hildenborough to oxidative stress: enzymatic and transcriptional analyses. *FEMS Microbiol. Lett.* 2010, v. 310(2), pp. 175-181.
2. Dolla A., Fournier M., Dermoun Z. Oxygen defense in sulfate-reducing bacteria. *J. Biotechnol.* 2006, v. 126(1), pp. 87-100.
3. Fournier M., Zhang Y., Wildschut J.D., Dolla A., Voordouw J.K., Schriemer D.C., Voordouw G. Function of oxygen resistance proteins in the anaerobic, sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio vulgaris* Hildenborough. *J. Bacteriol.* 2003, v. 185(1), p. 71-79.

OXIDATIVE STRESS IN PLANTS: UPDATE ON MOLECULAR AND CELLULAR MECHANISMS

Demidchik V.V.

*Department of Plant Cell Biology and Bioengineering, Biological Faculty,
Belarusian State University, Minsk, Belarus*

Oxidative stress is a complex chemical and physiological phenomenon that accompanies virtually all biotic and abiotic stresses in higher plants and develops as a result of overproduction and accumulation of reactive oxygen species (ROS). Recent data have clarified the 'origins' of oxidative stress in plants, and show that apart from classical chloroplast, mitochondrial and peroxisome sources, ROS are synthesised by NADPH oxidases and peroxidases. ROS damage all major plant cell bio-polymers, resulting in their dysfunction. They activate plasma membrane Ca^{2+} -permeable and K^{+} -permeable cation channels as well as annexins, catalysing Ca^{2+} signaling events, K^{+} leakage and triggering programmed cell death. Downstream ROS- Ca^{2+} -regulated signaling cascades probably include regulatory systems with one (ion channels and transcription factors), two (Ca^{2+} -activated NADPH oxidases and calmodulin) or multiple components (Ca^{2+} -dependent protein kinases and mitogen-activated protein kinases). Intracellular and extracellular antioxidants form sophisticated networks, protecting against oxidation and 'shaping' stress signaling. Research into plant oxidative stress has shown great potential for developing stress-tolerant crops. This can be achieved through the use of directed evolution techniques to prevent protein oxidation, bioengineering of antioxidant activities as well as modification of ROS sensing mechanisms.

ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ, ФЕНИЛПРОПАНОИДЫ И ПРОИЗВОДНЫЕ ТРИПТОФАНА В РЕГУЛЯЦИИ СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНЫХ ПРЕВРАЩЕНИЙ ГИДРОКСИЛСОДЕРЖАЩИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Бринкевич С.Д.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Свободнорадикальные превращения играют важную роль в функционировании организма человека. Однако их активация может приводить к ряду патологий, возникновение которых связывают с гиперпродукцией активных форм кислорода и интенсификацией процессов окисления. В то же время известно, что концентрация кислорода в биообъектах варьируется в широком интервале. В условиях пониженной концен-

трации кислорода к повреждению биомолекул могут приводить свободнорадикальные реакции с участием углеродцентрированных радикалов. Следовательно, актуальным является поиск веществ, способных регулировать свободнорадикальные процессы, которые реализуются при различных концентрациях кислорода и протекают в зависимости от этого с участием О- и С-центрированных радикалов.

Удобной моделью для изучения реакционной способности соединений по отношению к основным типам кислород- и углеродцентрированных радикалов, образующимся *in vivo*, является радиолиз водных растворов органических соединений.

В настоящем докладе будут изложены данные по влиянию аскорбиновой кислоты, витаминов группы В, производных триптофана, флавоноидов и фенилпропаноидов на радиационно-индуцированные и пероксид-индуцированные превращения гидроксилсодержащих органических соединений в водных растворах. Методом квантово-химических расчетов определены значения энтальпии гомолитической диссоциации связей и энтальпии присоединения атома водорода по кратным связям в структуре исследуемых веществ.

Установлено, что вещества, имеющие в своей структуре систему сопряженных кратных связей $>C=C<$, $>C=O$ или $>C=C<$, $>C=N-$ эффективно ингибируют как реакции свободнорадикальной фрагментации, так и окисления гидроксилсодержащих органических соединений.

Показано, что среди исследованных соединений есть вещества, которые способны окислять, восстанавливать и присоединять гидроксилсодержащие углеродцентрированные радикалы, причем наблюдается прямая корреляция между величиной энтальпии гомолитической диссоциации связей и способностью веществ выступать донорами атома водорода в реакциях со свободными радикалами. Значение энтальпии присоединения атома водорода по кратным связям в структуре веществ может быть использовано в качестве количественной характеристики окислительных свойств исследуемых соединений в гомолитических реакциях.

В докладе будет обсуждена взаимосвязь между структурой, радиалрегуляторными свойствами и биологической активностью исследованных соединений.

ГИБРИДНЫЕ МАКРОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ

Домнина Н.С.¹, Сергеева О.Ю.¹, Вольева В.Б.², Белостоцкая И.С.²,
Комиссарова Н.Л.²

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии,
Санкт-Петербург, Петергоф, Россия

² Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля, Москва, Россия

Повышенный интерес к синтезу и исследованию свойств новых структур в химии антиоксидантов в настоящее время привел к появлению огромного разнообразия фенольных структур, используемых в медицине и биологии в качестве антиоксидантов. Для современных антиоксидантов требуется сочетания в них антиоксидантных свойств со способностью к адресной доставке и к структурным взаимодействиям с защищаемым участком биосистемы. Вполне понятно, что простое варьирование структурных элементов в известных фенольных антиоксидантах, как правило, не приводит к существенному изменению свойств и расширению диапазона применения. В связи с этим перспективным направлением является создание гибридных макромолекулярных антиоксидантов, сочетающих в одной структуре ценные свойства полимера и антиоксиданта как регулятора свободнорадикальных процессов.

На кафедре химии высокомолекулярных соединений химического факультета Санкт-Петербургского государственного университета в течение многих лет проводятся исследования, связанные с разработкой методологии синтеза гибридных макромолекулярных антиоксидантов (ГМАО). Варьирование при синтезе гибридных макромолекулярных систем таких параметров как природа и молекулярная масса полимера, количество привитых фрагментов антиоксидантов, тип связи между антиоксидантом и полимерной цепью позволяет получать достаточно широкий круг систем с программируемыми антиоксидантными и другими ценными физико-химическими свойствами. Среди преимуществ ГМАО перед низкомолекулярными аналогами можно отметить следующие: повышение стабильности антиоксиданта и снижение уровня его токсичности; возможность создания высоких локальных концентраций; обеспечение пролонгации антиоксидантного действия; растворимость в воде; способность к рН-зависимому гидролизу и, самое главное, высокая антирадикальная и антиоксидантная активность, в 10-100 раз превышающая активность низкомолекулярных аналогов.

Для создания гибридных макромолекулярных антиоксидантов использованы различные био- и синтетические полимеры (декстран, крахмал, хитозан, сополимеры винилпирролидона с гидрофильными моно-

мерами, сополимеры диаллилдиметиламмонийхлорида с (мет)акриловой кислотой, поливиниловый спирт, полиэтиленгликоль и др. В качестве модификаторов использовались различные полифенольные антиоксиданты – функциональные производные пространственно-затрудненных фенолов, галловой кислоты, кверцетина и др. Гибкость метода химической модификации, выбранного для создания гибридных макромолекулярных антиоксидантов, позволяет адаптировать структуру гибридных систем под решение конкретных задач медицины и биологии.

Созданные ГМАО предложены в качестве стимуляторов роста растений, иммуномодуляторов, антимутагенов, плазмозаменителей и др.

АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА МИОКАРДА ПОСРЕДСТВОМ ГЛУТАТИОНИЛИРОВАНИЯ

Капелько В.И., Лакомкин В.Л., Лукошкова Е.В., Ундровина Н.А.,
Хапчаев А.Ю., Абрамов А.А., Ермишкин В.В., Ширинский В.П.

*Российский кардиологический научно-производственный комплекс
Министерства здравоохранения РФ, Москва*

Глутатион является главным редокс-буфером в кардиомиоцитах, его концентрация достигает 5 мМ. Соотношение восстановленной формы глутатиона к окисленной ($[GSH]/[GSSG]$) превышает 10, и поддержание такого соотношения важно для антиоксидантной защиты клеток. Гипоксия или ишемия снижают это соотношение, при этом повышается уровень Ca^{++} в миоплазме [1]. Поскольку транспорт глутатиона в клетки относительно медленный, предпочтительнее использовать моноэтиловый эфир глутатиона – этилглутатион (ЭГ), который эффективно проникает во многие клетки организма [2]. В нашей работе действие ЭГ изучали на изолированном сердце крыс и изолированных кардиомиоцитах, подвергнутых гипоксии-реоксигенации - классическому способу развития окислительного стресса.

Сердце перфузировали оксигенированным раствором Кребса, содержащим глюкозу (11 мм); регистрировали ЭКГ и давление в изоволюмическом баллончике, вставленном в полость левого желудочка. Гипоксию миокарда создавали посредством замены кислорода в перфузате на азот на 30 минут, после чего восстанавливали кислородное снабжение. Действие гипоксии проявлялось крутым падением развиваемого давления и постепенным ростом диастолического давления до 80 мм рт. ст., что в условиях изоволюмического режима отражает контрактуру миокарда. Частота возбуждений сердца сохранялась на сниженном втрое уровне. При реоксигенации средняя частота возбуждений восстанавли-

валась, но во всех опытах возникали аритмии, в том числе - желудочковая тахикардия и фибрилляция. В 3 опытах из 11 сердце не смогло восстановить сократительную функцию, а высокую частоту стимуляции 12 Гц смогли воспроизвести лишь 2 сердца.

Добавление ЭГ (0,2 мМ) в гипоксический раствор почти полностью предотвращало реоксигенационные аритмии, и все сердца восстанавливали сократительную функцию. Высокую частоту стимуляции смогли успешно воспроизвести 6 сердец из 9. Эти данные позволили предположить, что защитное действие ЭГ связано главным образом с уменьшением нарушений в системе ионного транспорта. Параллельно была выполнена работа на изолированных кардиомиоцитах. Клетки нагружали чувствительным к Ca^{++} флуоресцентным индикатором Fluo-4 и стимулировали серией электроимпульсов с частотой 1 Гц. В условиях оксигенации кардиомиоциты адекватно реагировали появлением кальциевых пиков в миоплазме и всегда воспроизводили навязанный ритм возбуждений. После замены в перфузате кислорода на азот кальциевые пики становились меньшими по величине и нерегулярными. Добавление ЭГ (1 мМ) к раствору предотвращало эти нарушения, и клетки могли успешно воспроизводить навязанный ритм. Основным кальциевым «насосом», устраняющим Ca^{++} из миоплазмы, является SERCA2 – кальциевая АТФаза мембраны саркоплазматического ретикулума (СР). Наличие ЭГ в растворе во время гипоксии повышало уровень глутатионилирования SERCA2, причём общая концентрация глутатиона в клетках оставалась неизменной. Известно, что восстановление остатков цистеина белков СР повышает Ca^{++} пики, сниженные при сердечной недостаточности [3]. ЭГ также предотвращал накопление активных форм кислорода во время гипоксии и реоксигенации (метод DHR флуоресценции).

Таким образом, успешно проникающий в кардиомиоциты ЭГ способен уменьшать степень окисления SERCA2 при развитии окислительного стресса, что нормализует транспорт Ca^{++} в кардиомиоцитах и предотвращает возникновение реоксигенационных аритмий. Следовательно, ЭГ может рассматриваться как кардиопротектор в патологиях, связанных с окислительным стрессом.

Литература:

1. Oba T, Maeno Y, Nagao M et al. Cellular redox state protects acetaldehyde-induced alteration in cardiomyocyte function by modifying Ca^{2+} release from sarcoplasmic reticulum. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294: H121–H133.
2. Anderson ME, Powrie F, Puri RN, Meister A. Glutathione monoethyl ester: preparation, uptake by tissues, and conversion to glutathione. *Arch Biochem Biophys* 1985; 239:538-548.
3. Terentyev DI, Györke I, Belevych AE et al. Redox modification of ryanodine receptors contributes to sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} leak in chronic heart failure. *Circ Res*. 2008 5;103 (12):1466-72.

АКТИВИРОВАННЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА В МОНООКСИГЕНАЗНОМ ПРОЦЕССЕ

Киселев П.А.

Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

На протяжении уже более полувека внимание исследователей привлекает окислительно-восстановительные процессы, протекающие в организме с участием активных форм кислорода (АФК). АФК – это высокореакционные химические частицы, возникающие в результате последовательного одноэлектронного восстановления молекулы кислорода и представляющие собой либо свободные радикалы ($O_2^{\cdot-}$, HO_2^{\cdot} , HO^{\cdot} , NO^{\cdot} , ROO^{\cdot}), либо соединения, легко образующие свободные радикалы (O_3 , 1O_2 , $ONOOH$, H_2O_2 , $HClO$, $ROOH$, $ROOR$). Долгое время считалось и до сих пор многие исследователи полагают, что роль АФК заключается лишь в запуске цепных свободно - радикальных реакций, приводящих к химической модификации важных биологических структур - нуклеиновых кислот, белков, липидов и, как следствие, к развитию патологических состояний. Однако еще в конце XIX века русский биохимик А.Н.Бах указал на важную роль перекисных соединений, именно, как продуктов реакций активного кислорода, в процессах медленного окисления различных соединений, а также в нормальной жизнедеятельности организмов [1]. Таким образом, совершенно не умаляя возможных нежелательных последствий от возникновения свободных радикалов кислорода и ПОЛ в клетках и тканях, следует иметь в виду их положительную роль в функционировании живых организмов и адаптации к воздействию факторов окружающей среды. В связи с этим важно выяснить, в чем различие механизмов действия АФК в малых и больших дозах и когда наступает сбой в системах, отвечающих за гомеостаз в клетке и в организме в целом. В этом плане особый интерес вызывают монооксигеназные системы.

С биохимической точки зрения все цитохром Р-450 - зависимые ферментные системы катализируют прямую реакцию между своими субстратами и O_2 . В присутствии электронотранспортных белков (такая система носит название полной) цитохромы Р-450 окисляют большое число природных субстратов и практически все ксенобиотики. Однако, наиболее удивительным свойством цитохром Р-450 зависимых ферментов является то, что в ряде случаев они способны проявлять высокую каталитическую активность в отсутствие электронотранспортных белков (шунтированные системы). В качестве донора кислорода в таких реакциях

могут выступать различные активированные формы последнего. Наиболее широко известными источниками являются гидропероксиды. Не вызывает сомнения существенный вклад исследований шунтированных систем в понимание механизма активации молекулярного кислорода. Более спорным является вопрос о физиологической значимости последних в монооксигеназных процессах. По нашему мнению это обусловлено несколькими основными причинами: во-первых, замена электронотранспортных белков на источники активированного кислорода в условиях *in vitro* наиболее часто была успешной при использовании изоэнзимов цитохрома P-450 из микросом печени, участвующих в реакциях детоксикации ксенобиотиков. Необходимая эффективность таких процессов *in vivo* во многом обеспечивается высокой активностью в клетках печени цитP450- редуктазы. Поэтому возможность существенного вклада шунтированных систем в реакции детоксикации ксенобиотиков не выглядит физиологически обоснованной; во-вторых, по сравнению с полными, в шунтированных системах часто обнаруживается более широкий спектр образующихся продуктов, что вполне объяснимо с точки зрения механизма реакций, однако нелогично в плане позитивной функциональной значимости; в третьих, в целом описано лишь небольшое число монооксигеназных процессов с участием активированных форм кислорода, в которых в качестве субстратов выступали бы функционально важные эндогенные регуляторные соединения, за исключением, пожалуй, лишь полиненасыщенных жирных кислот. В четвертых, относительно мало известно об эффективности эндогенных пероксидов, таких как пероксиды жирных кислот, в качестве кофакторов пероксигеназного процесса.

В настоящей работе рассмотрено три аспекта проблемы. Целью первой части исследования стало выяснение потенциальных свойств гидропероксидов ненасыщенных жирных кислот и кумола (ГПК) как кофакторов цитохрома P450. Для этого на базе микросомальной фракции клеток печени крыс и высокоспецифичных субстратов цитохрома P450 - 7-этоксирезорруфина и 7-этоксикумарина охарактеризована эффективность различных кофакторов: НАДФН, ГПК и гидропероксидов арахидоновой и линоленовой кислот. Во второй части работы охарактеризована реакция окисления эндогенных физиологически важных соединений - 17 β -эстрадиола и эстрогена рекомбинантным цитохромом P-4501A1 человека в присутствии гидропероксида кумола. Характеристике окислительного стресса и возможным путям его регуляции посвящена третья часть доклада. Объектом исследования стали раковые клеточные линии – MCF-7 (аденокарцинома молочной железы) и A549 (карцинома легкого). В качестве соединений, обладающих потенциальной антикан-

церогенной активностью, проанализированы свойства двух природных brassinosterоидов - 28-гомоbrassinолида (1) и 24-эпиbrassinолида (2), а также двух их синтетических производных - (22S,23S)-28-гомоbrassinолида (3) и (22S,23S)-24-эпиbrassinолида (4).

С помощью МТТ-теста установлено, что данные соединения обладают антипролиферативной активностью, снижающейся в ряду $3 > 2 > 1 > 4$. Методом проточной цитометрии с использованием 2',7'-дихлордигидрофлуоресцеина диацетата охарактеризовано влияние анализируемых соединений на уровень окислительного стресса в клеточных линиях. Обнаружено, что в отличие от природных (1 и 2), синтетические производные brassinosterоидов (3 и 4) увеличивают уровень окислительного стресса в 2–5 раз, по сравнению с контролем. Полученные данные указывают на возможную взаимосвязь антипролиферативной активности и уровня окислительного стресса.

Литература:

1. Бах А.Н. // Журн.Русск.физ.-хим.общ. 1897. Т. 29. С. 373-398.

СТРУКТУРА, КЛАССИФИКАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРИРОДНЫХ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ

Костюк В.А., Потапович А.И.

НИИ физиологии, БГУ, Минск, Беларусь

Термин полифенолы относится к веществам, содержащим более одной фенольной группы. Исходя из их расположения и числа, полифенолы разделяют на: пирокатехолы, пирогаллолы, резорцинолы, флороглюцинолы и гидрохиноны. Молекулы природных полифенольных соединений (ППС) обычно состоят более чем из одного полифенольного компонента. Наиболее распространенными ППС являются фенилпропаноиды. Эти соединения образуются в шикиматном пути вторичного растительного метаболизма и включают несколько структурно различающихся групп: гликозилированные фенилпропаноиды, флавоноиды, изофлавоноиды, кумарины, стильбеноиды, куркуминоиды и лигнаны. Стильбеноиды вырабатываются в ответ на негативное воздействие окружающей среды или инфекционное заражение, повышая стресс устойчивость растений. Представитель этой группы ресвератрол содержится в кожуре и семенах многих растений. К куркуминоидам относят вещества, извлеченные из корня куркумы. Экстракт из куркумы в основном состо-

ит из куркумина (75–95%), а также содержит диметоксикуркумин и бис-диметоксикуркумин. Наиболее многочисленной группой ППС являются флавоноиды. Это семейство включает более четырех тысяч соединений. Структурной основой флавоноидов является флавоновое ядро, состоящее из 15 атомов углерода, которые формируют три кольца А, В и С. В зависимости от степени окисления и природы заместителей центрального пиранового кольца С флавоноиды разделяют на несколько классов. В природе флавоноиды, как правило, встречаются в виде гликозидов, в которых полифенольная часть (агликон) связана β-гликозидной связью с различными моно- и олигосахаридами. Существует также большое количество полимерных форм ППС, объединенных в семейство конденсированных танинов или проантоцианидинов. В зависимости от структуры повторяющихся мономеров их делят на процианидины и продельфинидины.

ППС обладают низкими окислительно-восстановительными потенциалами ($E^\circ 0.25\text{--}0.75\text{ v}$) и, как следствие, сильными электрон-донорными свойствами. Термодинамические свойства позволяют им легко отдавать электрон молекулам с относительно высоким окислительно-восстановительным потенциалом, особенно активным формам кислорода (АФК), таким как супероксид ($\text{O}_2^{\cdot-}$), гидроксил- ($\cdot\text{OH}$), пероксид- (ROO^\cdot) и алкоксил- (RO^\cdot) радикалы. Благодаря таким реакциям ППС могут ингибировать цепные свободнорадикальные реакции, как на стадии инициирования, так и на стадии продолжения цепи. Будучи эффективными хелаторами ионов металлов, в первую очередь железа и меди, ППС способны функционировать и как превентивные антиоксиданты, ингибируя разложение ионами металлов органических пероксидов. Кроме того, металлокомплексы некоторых флавоноидов являются уникальными агентами, способными эффективно дисмутировать анион-радикал кислорода и сайт-специфически разлагать образующийся в результате реакции дисмутации пероксид водорода.

Одна из важных особенностей растительных полифенолов - чрезвычайно широкий спектр клеточных и внеклеточных мишеней, на которые они способны воздействовать. Все первичные молекулярные мишени полифенолов в организме человека могут быть классифицированы как специфические или неспецифические. Обычно специфические мишени растительных полифенолов – это активные центры ферментов или связывающие сайты рецепторов. Препятствуя связыванию эндогенных лигандов, растительные полифенолы ингибируют соответствующие метаболические пути или пути меж- и внутриклеточной передачи сигнала. Множество биологических эффектов растительных полифенолов реализуется

и посредством неспецифического взаимодействия с разнообразными мишенями – от белков до малых молекул и ионов.

Эпидемиологические исследования позволяют говорить о ППС как о необходимых непитательных компонентах пищи. Связь между потреблением ППС и уменьшением смертности от сердечно-сосудистой патологии была установлена в многочисленных исследованиях. К настоящему времени получен ряд экспериментальных и клинических доказательств, свидетельствующих о перспективности использования ППС в качестве эффективных противовоспалительных средств. В частности, можно отметить, что 12 из 40 противовоспалительных препаратов, одобренных для медицинского использования в период с 1983 по 1994 во всем мире, являются природными полифенолами или их производными. Установлено, что ППС эффективно влияют не только на продукцию биорадикалов в области воспаления, но и на пути сигнальной трансдукции, управляющие воспалительным процессом.

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ И КАРБОНИЛЬНЫЙ СТРЕСС ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ И ДИАБЕТЕ

Ланкин В.З., Тихазе А.К.

*ФГБУ «Российск. кардиол. научно-производств. комплекс» Минздрава РФ,
Москва, Россия*

Развитие атеросклероза, как было установлено нами ранее, сопровождается возникновением окислительного стресса, сопровождающегося накоплением липогидропероксидов в крови [1], причем окисленные ЛНП приобретают способность интенсивно накапливаться в клетках стенки сосудов (преимущественно, в моноцитах-макрофагах), вызывая предатерогенные (липоидозные) повреждения интимы. Нами установлено, что окисление фосфолипидов наружного слоя частиц ЛНП С-15 животной липоксигеназой до соответствующих ацилгидроперокси-производных не приводит к увеличению их захвата культивируемыми макрофагами человека, тогда как ЛНП, модифицированные вторичным продуктом свободнорадикального окисления липидов – МДА, весьма активно поглощаются этими клетками [2]. Исследования, проведенные нами на независимых репрезентативных выборках пробандов из Москвы и Таллинна показали, что атерогенные (обогащенные холестерином) ЛНП являются одновременно и МДА-модифицированными [3].

В то же время, окисленность ЛНП у больных сахарным диабетом типа 2 с нарушениями углеводного обмена значительно выше, чем окис-

ленность ЛНП у больных атеросклерозом [4,5], причем глюкоза в диапазоне концентраций 12,5-100 мМ стимулирует свободнорадикальное окисление ЛНП плазмы крови человека *in vitro*. На основании исследования кинетических параметров окисления ЛНП установлено, что интенсификация ПОЛ вызвана образованием радикальных интермедиатов автоокисления глюкозы при ее соокислении с полиеновыми фосфолипидами наружного слоя частиц ЛНП [4,5]. Действительно, как было установлено, глюкоза в исследованном диапазоне концентраций стимулирует окисление липосом из яичного фосфатидилхолина при инициации азоинициатором AIBN. Доказано, что при соокислении глюкозы и полиеновых липидов в составе ЛНП или липосом происходит генерирование супероксидных анион-радикалов, поскольку свободнорадикальные реакции практически полностью подавляются при введении СОД в среду инкубации. Обнаружено, что нормализация уровня глюкозы в крови больных сахарным диабетом типа 2 в процессе сахароснижающей терапии сопровождается также существенным снижением окисленности ЛНП [5]. Накопление интермедиатов окислительного метаболизма глюкозы – низкомолекулярных α -оксоальдегидов, таких как глиоксаль и метилглиоксаль, провоцирует возникновение карбонильного стресса, причем эти дикарбонилы, также как МДА, вызывают атерогенную модификацию ЛНП. Нами показано, что глиоксаль-модифицированные ЛНП захватываются культивируемыми макрофагами человека с существенно большей эффективностью по сравнению с МДА-модифицированными ЛНП, т.е. являются более атерогенными [4,6]. Кроме того обнаружено, что при реакции концевых аминогрупп апобелка ЛНП с метилглиоксалем может происходить вторичное генерирование супероксидных анион-радикалов [7]. В соответствии с этим, при терапии метформином, способным связывать и утилизировать метилглиоксаль, окисление ЛНП больных сахарным диабетом *in vivo* ингибируется в большей степени, чем при терапии другими сахароснижающими лекарственными препаратами [5]. Показано, что *in vitro* природные дикарбонилы, способные накапливаться в процессе окислительного стресса при атеросклерозе (МДА) или карбонильного стресса при сахарном диабете (глиоксаль, метилглиоксаль), весьма существенно ингибируют активность антиоксидантных ферментов – каталазы, Cu,Zn-СОД и Se-содержащей GSH-пероксидазы из эритроцитов. После инкубации эритроцитов человека в присутствии 10 мМ исследуемых дикарбонилов также было выявлено снижение активности внутриклеточной Cu,Zn-СОД [8]. Активность эритроцитарной Cu,Zn-СОД была существенно снижена у больных сахарным диабетом типа 2 с нарушениями углеводного обмена, тогда как эффективная сахароснижающая терапия

сопровождалась увеличением активности этого фермента. При терапии больных сахарным диабетом типа 2 с использованием метформина, способного утилизировать метилглиоксаль, активность эритроцитарной Cu,Zn-СОД возрастала в значительно большей степени, чем при традиционной сахароснижающей терапии [8]. Полученные результаты свидетельствуют о том, что нарушения углеводного обмена при диабете могут стимулировать развитие карбонильного стресса и интенсификацию атерогенной модификации ЛНП. Это объясняет известный факт прогрессирования атеросклероза при наличии диабета, причем, в соответствии с полученными нами данными, можно высказать гипотезу о едином молекулярном механизме повреждения стенки сосудов при атеросклерозе и сахарном диабете с участием карбонил-модифицированных ЛНП [5].

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 14-15-00245.

Литература:

1. Lankin V., Tikhaze A. NATO Science Series 2003, 344: 218-231.
2. Lankin VZ, Tikhaze AK, Kumsikova EM. Mol Cell Biochem. 2012 ;365(1-2):93-98.
3. Viigimaa M, Abina J, Zemtsovskaya G, Tikhaze A, Konovalova G, Kumsikova E, Lankin V. Blood Pressure 2010;19(3):164-168.
4. Lankin V. et al., in: Handbook of Lipoprotein Res.2010, Nova Sci.Pub., 85-107.
5. Lankin VZ, Konovalova GG, Tikhaze AK, Shumaev KB, Kumsikova EM, Viigimaa M. Mol Cell Biochem 2014; 395(1-2): 241-252.
6. Lankin VZ, Tikhaze AK, Kapel'ko VI, Shepel'kova GS, Shumaev KB, Panasencko OM, Konovalova GG, Belenkov YN. Biochemistry (Mosc). 2007, 72(10):1081-90.
7. Shumaev KB, Gubkina SA, Kumsikova EM, Shepelkova GS, Ruuge EK, Lankin VZ. Biochemistry (Mosc). 2009,74(4):461-6.
8. Lankin VZ, Konovalova GG, Tikhaze AK, Shumaev KB, Kumsikova EM, Viigimaa M. J.Diabetes 2015 (in press).

СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ ДЕСТРУКЦИИ АМИНОСОДЕРЖАЩИХ БИОМОЛЕКУЛ

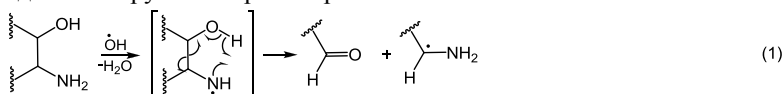
Лисовская А.Г., Сладкова А.А., Шадыро О.И.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Известно, что активные формы кислорода (АФК) индуцируют свободнорадикальные превращения биологически важных веществ. В присутствии кислорода это, как правило, процессы окисления, в которые вовлекаются компоненты биомембран и в первую очередь липиды. Данные процессы протекают с участием кислородцентрированных радикалов, и считается, что реализация окислительных процессов приводит к разви-

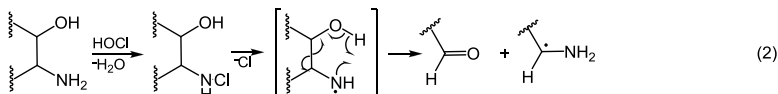
тию патологий. В наших работах показано, что, помимо окисления, гидроксилсодержащие молекулы вступают в АФК-индуцированные процессы фрагментации, протекающие без участия кислорода. Ключевой стадией в этих процессах являются реакции углеродцентрированных радикалов исходных веществ. На примере ряда аминокислотных соединений, было установлено [1–7], что при действии на их растворы инициаторов свободнорадикальных превращений могут генерироваться азотцентрированные радикалы, свойства которых не изучены. Аминогруппа входит в состав таких биологически важных соединений, как аминокислоты, сфинголипиды и аминокислоты. Следовательно, актуальным является изучение превращений $RN^{\bullet}H$ и $RN^{\bullet+}H_2$ интермедиатов различного строения.

В работах [1–4] были исследованы закономерности образования конечных продуктов радиолиза ряда веществ, содержащих α,β -аминоспиртовый фрагмент. Установлено, что α,β -аминоспирты вступают в радиационно-индуцированные реакции C–C-деструкции с участием азотцентрированных радикалов по схеме (1). При этом наличие свободной аминогруппы является необходимым условием для реализации процесса деструкции, который протекает намного эффективнее, когда аминогруппа непротонирована.

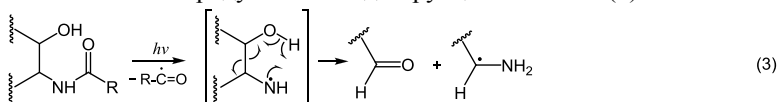


Показано, что при действии γ -излучения на ряд лизосфинголипидов в водных дисперсиях реализуется реакция их фрагментации по схеме (1) с образованием продукта их C–C-деструкции – 2-гексадеценала [1]. В случае гидроксилсодержащих аминокислот и пептидов радиолиз их водных растворов инициирует образование N-центрированных радикалов исходных соединений, фрагментация которых приводит как к декарбоксилированию, так и к деструкции C–C-связи исходных субстратов с элиминированием боковых заместителей [4]. Процесс свободнорадикального превращения серина и треонина приводит к образованию альдегидов и глицина.

Нами установлена возможность образования продуктов деструкции лизосфинголипидов и гидроксилсодержащих аминокислот при действии хлорноватистой кислоты (HOCl) [5,6]. Данный процесс свободнорадикальной деструкции протекает через стадию образования хлорпроизводных, которые гомолитически распадаются, давая азотцентрированные радикалы. Продуктами фрагментации последних являются 2-гексадеценаль и низкомолекулярные альдегиды соответственно (2).



При изучении фотохимических превращений амидоспиртов, амидо-содержащих сфинголипидов, а также дипептидов, имеющих на С-концевом участке молекулы остатки серина или треонина, показано [1,4,7], что действие УФ-излучения на их водные растворы индуцирует фотораспад по Норришу типа I с образованием азотцентрированных радикалов. Образовавшиеся N-центрированные радикалы далее фрагментируют с разрывом двух β -связей по отношению к радикальному центру и накоплением продуктов С-С-деструкции по схеме (3).



Схожие продукты радиационно-, фото- и HOCl-индуцированных превращений исследованных аминоксодержащих биомолекул могут служить подтверждением реализации реакций деструкции за счет образования и фрагментации их азотцентрированных радикалов. Следует отметить, что на вероятность реализации такого рода процессов кислород не оказывает существенного влияния.

Литература:

1. Lisovskaya A., Edimecheva I., Shadyro O. // *Lipids*. 2011. Vol. 46. P. 271–276.
2. Lisovskaya, A., Sladkova, A., Sosnovskaya, A., Shadyro, O. // *High Energy Chem*. 2012. Vol. 46, № 4. P. 241–246.
3. Sladkova A., Lisovskaya A., Edimecheva I., Sosnovskaya A., Shadyro O. // *Radiat. Phys. Chem*. 2014. Vol. 96. P. 229–237.
4. Sladkova A., Sosnovskaya A., Edimecheva I., Shadyro O. // *Radiat. Phys. Chem*. 2012. Vol. 81, № 12. P. 1896–1903.
5. Shadyro O., Lisovskaya A., Semenkova G., Edimecheva I., Amaegberi N. // *Lipid insights*. 2015. Vol. 8. P. 1–9.
6. Sladkova A., Sosnovskaya A., Edimecheva I., Semenkova G., Shadyro O. // *The FEBS Journal*. 281 (Suppl. 1). 2014. P. 624–625.
7. Lisovskaya A., Shadyro O., Edimecheva I. // *Photochem. Photobiol*. 2012. Vol. 88. P. 899–903.

РЕДОКС-СИГНАЛИЗАЦИЯ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ: БИОФИЗИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ

Мartiнович Г.Г., Черенкевич С.Н.

*Кафедра биофизики Белорусского государственного университета,
Минск, Беларусь*

Необходимым этапом развития современных биомедицинских технологий является изучение механизмов передачи и обработки информации внутри клеток. Одним из путей передачи информации в клетках являются электрон-транспортные процессы, протекающие с участием редокс-активных соединений и белков [1].

Физико-химические и биологические свойства редокс-активных соединений позволяют их выделить в отдельную группу биорегуляторов, основными отличительными свойствами которых от остальных биологически активных веществ является широкий спектр клеточных ответов, определяемых величиной концентрации соединений, и отсутствие специфических молекулярных мишеней в клетках [2]. В отличие от участвующих во внутриклеточной передаче информационных сигналов вторичных мессенджеров редокс-активные соединения функционируют как мессенджеры, переносящие электроны, или редокс-мессенджеры [3].

Биологический эффект действия редокс-активных соединений определяется не конкретной молекулой, а группой взаимодействующих участников, образующих электрон-транспортные цепи. Для описания состояния взаимодействующих редокс-активных соединений используется понятие «редокс-состояние». Компоненты, определяющие внутриклеточное редокс-состояние, регулируют передачу сигналов на различные внутриклеточные эффекторы [4, 5].

В настоящее время, для количественной характеристики стационарного состояния группы функционально взаимосвязанных редокс-активных соединений, определяющего редокс-состояние клетки, используются три подхода [6], одним из которых является применение введенных нами параметров эффективный редокс-потенциал ($E^{\text{эфф}}$) [5] и редокс-буферная емкость (r) [7]. В отличие от других подходов описания редокс-состояния введение параметров $E^{\text{эфф}}$ и r обосновывается на основе фундаментальных физических закономерностей.

Нами показано, что новые параметры могут быть применены не только для описания редокс-процессов, но и для характеристики функционального состояния клеток и тканей в целом [8]. С использованием разработанных нами методов измерения $E^{\text{эфф}}$ и r показано, что величины

указанных параметров существенно различаются в клетках в норме и при патологии [9].

Вследствие различия в величинах $E^{\text{окф}}$ и r окислитель (или восстановитель) при одинаковых по величине концентрациях вызывает различные по величине смещения редокс-потенциала в разных типах клеток. Поэтому в разных типах клеток редокс-активные соединения могут активировать разные типы белков. Таким образом, внутриклеточное редокс-состояние можно рассматривать как преобразователь («трансдюсер»), регулирующий передачу сигналов на внутриклеточные эффекторы. Сенсорные системы внутри клеток чувствительны к изменениям параметров внутриклеточного редокс-состояния и с помощью белков-посредников формируют функциональный клеточный ответ. В рамках развиваемых нами представлений заключено, что функционирование редокс-мессенджерных систем представляет собой новый способ передачи, записи и считывания информации в клетках.

Литература:

1. Мартинович Г.Г., Черенкевич С.Н. Окислительно-восстановительные процессы в клетках: Мн.: БГУ, 2008.
2. Martinovich G.G., Martinovich I.V., Cherenkevich S.N. // Biophysics. 2011. Vol.56, №3, P.444–451.
3. Черенкевич С.Н., Мартинович Г.Г., Мартинович И.В., и др. // Известия НАН Беларуси. Сер. биол. наук. 2013. №1. С.92–108.
4. Schafer F.Q., Buettner G.R. // Free Rad. Biol. Med. 2001. Vol. 30. P. 1191–1212.
5. Martinovich G.G., Cherenkevich S.N., Sauer H. // Eur. Biophys. J. 2005. Vol.34. №7. P. 937–942.
6. Pillay C.S., Hofmeyr J.H., Mashamaite L.N., Rohwer J.M. // Antiox. Redox Signal. 2013. Vol. 18. P. 2075–2086.
7. Martinovich G.G., Martinovich I.V., Cherenkevich S.N., Sauer H. // Cell Biochem. Biophys. 2010. Vol.58, №2, P.75–83.
8. Rosales-Corral S., Reiter R.J., Tan D. et al. // Antiox. Redox Signal. 2010. Vol. 13. P. 193–247.
9. Мартинович Г.Г., Мартинович И.В., Черенкевич С.Н. // Биофизика. 2008, том 53, №4, С.618–623.

РЕГУЛЯЦИЯ ФУНКЦИЙ ТРОМБОЦИТОВ РЕАКТИВНЫМИ ОКСИДАНТАМИ ХЛОРАМИНОВОЙ ПРИРОДЫ

Мурина М.А.¹, Рошупкин Д.И.^{2,1}, Буравлева К.В.¹, Сергиенко В.И.¹

¹ФГБУН «Научно-исследовательский институт физико-химической медицины
Федерального медико-биологического агентства» Москва, Россия;

²ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский
университет им. Н.И.Пирогова» Минздрава, Москва, Россия

В живых организмах имеются системы регуляции с участием реактивных оксидантов (пероксида водорода, оксида азота, аминокислотных хлораминов, пероксинитрита) [1,2,3].

В данной работе установлены особенности изменения функций клеток крови и компонентов свертывающей системы при их ковалентной модификации реактивными умеренными оксидантами. Эту группу оксидантов составили N-хлортаурин, его структурные N-ацильные и N-алкильные аналоги, гипохлорит натрия. Один из главных результатов работы заключался в выяснении клеточной избирательности действия структурных аналогов хлорамина таурина на кровь. Клеточной мишенью для N-алкильных и N-ацильных структурных аналогов хлорамина таурина являются тромбоциты. Их функции, включая агрегацию, сильно угнетаются при умеренных концентрациях оксидантов. В крови это действие избирательно, т.е. свойства эритроцитов и лейкоцитов не изменяются, когда имеет место сильное ингибирование тромбоцитов.

Изучены физико-химические характеристики и биологические свойства, определяющие антитромботическую активность, структурных аналогов N-хлортаурина [4]. Некоторые характеристики, в частности, парциальные заряды Малликена для хлораминовой части и смежных атомов, рассчитаны непараметрическим квантовомеханическим методом B3LYP. Определены константы скоростей реакций с серосодержащими соединениями N-ацильных и N-алкильных аналогов N-хлортаурина. Получена количественная корреляция реакционной способности исследуемых хлораминов с их молекулярными расчетными характеристиками. Два варианта структурных аналогов хлорамина таурина обладают химической избирательностью взаимодействия с определенными серосодержащими группами. N-Ацильные производные хлорамина таурина характеризуются повышенной реакционной способностью по отношению к сульфгидрильной группе цистеина. Установлено, что антикоагулянтный и антиагрегантный эффекты структурных аналогов хлорамина таурина зависят от структуры заместителя. Алкильный аналог N-изопропил-N-хлортаурин вызывает многократное увеличение периода коагуляции плазмы, активи-

руемой контактным способом или тромбином [5]. Наибольшая антиагрегантная активность в суспензии изолированных тромбоцитов характерна для N-ацильных аналогов хлорамина таурина. Можно полагать, что это различие в свойствах N-ацильных и N-алкильных аналогов N-хлортаурина определяется их хемоселективными реакционными особенностями. Выраженное ингибирующее действие N-ацильных аналогов на агрегацию изолированных тромбоцитов, скорее всего, обусловлено модификацией сульфгидрильных групп в белках плазматической мембраны.

С использованием компьютерного квантовомеханического расчета выявлена совокупность молекулярных характеристик, пригодных для оценки устойчивости хлораминов таурина: парциальные атомные заряды Малликена для хлора, азота, атома углерода (CN), связанного с азотом, длина связи N-CN. На основе компьютерного предсказания, синтезирован новый устойчивый структурный аналог хлорамина таурина N-(2-хлорацетил)-N-хлортаурин, экспериментально определен срок сохранения хлораминовой группы. Показано, что этот устойчивый хлорамин обладает высокой антиагрегантной активностью.

Литература:

1. Nassem K. M., Roberts W. Nitric oxide at a glance // *Platelets*. – 2010. – Vol. 22, No.2. – P.1–6.
2. Stacey M. M., Vissers M. C., Winterbourn C. C. Oxidation of 2-Cys peroxiredoxins in human endothelial cells by hydrogen peroxide, hypochlorous acid, and chloramines // *Antioxid. Redox Signal.* – 2012. – Vol.17, No.3. – P. 411–421.
3. Essex D.W. Redox control of platelet function. // *Antioxid. Redox Signal.* – 2009. – Vol.11, No. 5. – P.1191–225.
4. Рошупкин Д.И., Кондрашова К.В., Мурина М.А. Молекулярные характеристики структурных аналогов хлорамина таурина и предсказание их реакционных свойств // *Биофизика* – 2014. – Т. 59, № 6. С. 1045–1050.
5. Мурина М.А., Рошупкин Д.И., Кондрашова К.В., Сергиенко В.И. Угнетение коагуляции плазмы крови и агрегации тромбоцитов структурными аналогами хлорамина таурина // *Бюлл. экспер. биол. мед.* – 2014. – Т. 157, № 2. – С.169–179.

РОЛЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В НАРУШЕНИИ ФУНКЦИИ КЛЕТОК ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Надольник Л.И., Горева Д.А., Чумаченко С.С.

*Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси,
Гродно, Беларусь*

Исследование роли окислительных модификаций в инициации и развитии нарушений функциональной активности основных этапов метаболизма йода в щитовидной железе (ЩЖ) представляет значительный интерес в связи с метаболическими особенностями тироцитов: наличием в клетке специфических систем продукции активных форм кислорода O_2^- , H_2O_2 и йода, необходимых для синтеза тиреоидных гормонов, а также тесной сопряженностью процессов тиреоидогенеза с клеточной мембраной.

Исследовалась взаимосвязь функциональной активности клеток ЩЖ с активностью процессов свободнорадикального окисления (СРО) на фоне йодного дефицита, избыточного поступления йода в организм, воздействия хронического психоэмоционального стресса. Это позволило выявить ряд закономерностей, свидетельствующих о том, что клетки ЩЖ характеризуются высокой активностью процессов СРО. Установлено, что йодный дефицит индуцирует продукцию АФК; это согласуется со структурными нарушениями ЩЖ (десквамация тиреоидного эпителия в просвет фолликулов, деструкция фолликулярной структуры). На фоне избыточного поступления йода (3–500 СД) в течение 2 недель в ЩЖ крыс выявлен дисбаланс двух важнейших метаболических систем тироцитов: поглощение/органификация йода; снижение степени органификации йода (увеличение соотношения $I_{своб}/I_{бсвяз}$ на 40–60%) повышает содержание его свободной фракции в ЩЖ (на 95–128%), что индуцирует развитие окислительного стресса. Установлено, что хронический стресс вызывает разнонаправленные изменения активности основных этапов метаболизма йода в ЩЖ. Повышение содержания $I_{общ}$ и $I_{своб}$ – следствие активации его поглощения в постстрессорный период. Снижение эффективности органификации йода обусловлено ингибированием ТПО, а также снижением концентрации тиреоглобулина (ТГ) в ЩЖ. При стрессе нарушается баланс синтез/секреция ТГ и, как следствие, в тироцитах и фолликулярном люмене накапливается значительное количество неорганифицированного йода. Учитывая постоянную наработку H_2O_2 в тироцитах, повышение концентрации свободного йодида в ЩЖ является источником свободных радикалов йода.

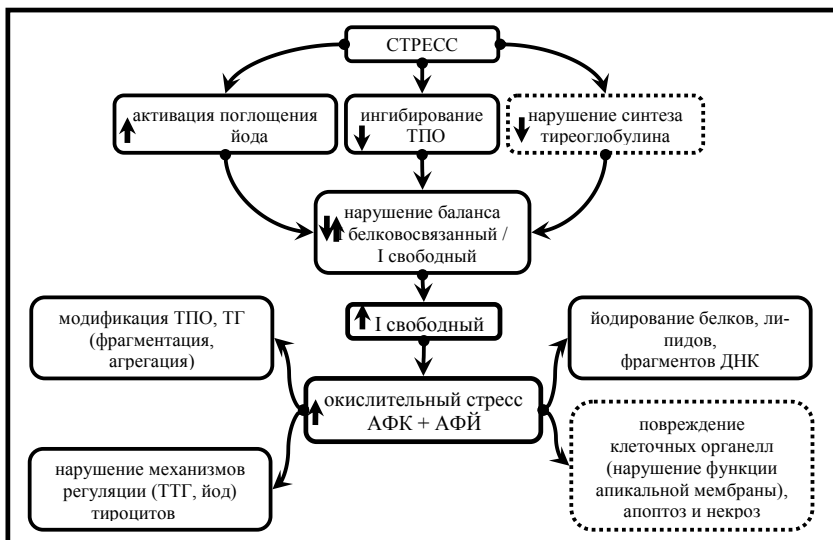


Рисунок – Механизмы развития окислительного стресса и окислительные модификации в клетках ЩЖ

При избытке йодида он может взаимодействовать с катионом йодина, образуемого при окислении йодида ТПО, с образованием I_2 , который при взаимодействии с H_2O_2 образует активные формы йода, что индуцирует развитие йодного стресса. В условиях окислительного стресса в ЩЖ йодируются белки, липидные компоненты мембран, возможно образование йодолактонов, нарушение функции тироцитов. Кроме того, при окислительном стрессе возможна модификация ТГ и ТПО, – за счет увеличения степени йодирования ТГ и его агрегации, а также фрагментации [Duthoit C., 2001], образования радикалов ТПО [Ehrenshaft M., 2006] и снижения её сродства к основному субстрату – йодиду [Надольник Л.И., 2012].

Полученные результаты свидетельствуют, что механизмы окислительного стресса в ЩЖ включают две составляющих: нарушение антиоксидантно/прооксидантного баланса и избыточную продукцию АФК, и образование высокореакционных активных форм йода (АФЙ), что связано со специфическим метаболизмом и структурными особенностями тироцитов. Модификацию активности процессов СРО в ЩЖ предполагается использовать как способ тиреопротекторной коррекции при хроническом стрессе и йоддефицитных заболеваниях.

МОДИФИКАЦИЯ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ В УСЛОВИЯХ, МОДЕЛИРУЮЩИХ ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ/ГАЛОГЕНИРУЮЩИЙ СТРЕСС

Панасенко О.М.¹, Вахрушева Т.В.¹, Григорьева Д.В.², Горудко И.В.²,
Соколов А.В.^{1,3}, Костевич В.А.^{1,3}, Черенкевич С.Н.²

¹ФГБУН НИИ физико-химической медицины ФМБА России, Москва, Россия

²Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

³ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Миелопероксидаза (МПО) – прооксидантный фермент, содержащийся главным образом в азурофильных гранулах нейтрофилов и высвобождающийся во внеклеточное пространство в очагах воспаления. МПО катализирует реакцию образования активных форм галогенов (АФГ) и кислорода (АФК). Благодаря этой способности фермент осуществляет, с одной стороны, антимикробную функцию, с другой – участвует в целом ряде событий, вовлеченных в повреждение собственных тканей организма, что приводит к развитию окислительного/галогенирующего стресса [1]. При этом МПО, находясь в очаге воспаления, становится мишенью для АФК и АФГ. Цель работы – в условиях, моделирующих возникновение окислительного/галогенирующего стресса, изучить особенности модификации ароматических аминокислотных остатков фермента, а также изменение его пероксидазной и галогенирующей активности, сопоставить результаты с бактерицидной активностью МПО.

Условия возникновения окислительного/галогенирующего стресса моделировали: 1) путем воздействия на фермент АФГ, образующихся в МПО-зависимых реакциях: HOCl , NOBr , хлор- и бромамины; 2) самоинактивацией фермента в присутствии H_2O_2 и субстратов цикла галогенирования: Cl^- , Br^- или SCN^- . В качестве хлор- и бромаминов использовали хлор- и бромамины таурина, синтезированные в реакции таурина с HOCl и NOBr , соответственно. Степень повреждения ароматических аминокислотных остатков МПО оценивали по уменьшению интенсивности собственной флуоресценции фермента ($\lambda_{\text{возб.}}=285$ нм, $\lambda_{\text{исп.}}=340$ нм). Пероксидазную активность МПО определяли спектрофотометрически по окислению хромогенного субстрата *o*-дианизидина [2]. Хлорирующую активность МПО оценивали, используя таурин в качестве перехватчика образующейся HOCl , и регистрируя (спектрофотометрически) последующее окисление хлорамином таурина 5-тио-2-нитробензойной кислоты [3]. Бактерицидную способность МПО тестировали на лабораторном штамме кишечной палочки *E. coli* DH52.

Показано, что инкубация МПО при 23°C в течение 1 ч в присутствии НОСl, НОВг или бромамина таурина (МПО:АФГ=1:100, моль/моль) приводила к существенному снижению интенсивности собственной флуоресценции МПО, что свидетельствовало о разрушении, соответственно, 45, 45 и 38% остатков триптофана. Хлорамин таурина в аналогичных условиях не оказывал заметного влияния на интенсивность собственной флуоресценции МПО. Самоинактивация фермента в присутствии 140 мМ хлорида или 100 мкМ бромида сопровождалась разрушением, соответственно, 87 и 88% остатков триптофана. При самоинактивации МПО в присутствии 120 мкМ NaSCN интенсивность собственной флуоресценции МПО не изменялась. После инкубации МПО с НОСl, НОВг или бромамином таурина снижалась как пероксидазная, так и хлорирующая активность фермента, начиная с мольного соотношения МПО:АФГ=1:100 и выше. Хлорамин таурина незначительно снижал активность МПО только при высоких концентрациях (МПО:АФГ=1:1000, моль/моль). Инактивация МПО при функционировании цикла галогенирования снижалась в ряду субстратов: $\text{Br}^- > \text{Cl}^- > \text{SCN}^-$. Модификация остатков триптофана и инактивация фермента сопровождалась снижением бактерицидной активности МПО.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что модификация аминокислотных остатков МПО в условиях окислительного/ галогенирующего стресса, приводящего к развитию патологических реакций, характерных для очагов воспаления, снижает его ферментативную активность, что сопровождается угнетением бактерицидной способности МПО.

Работа поддержана РФФИ (грант 14-04-90007) и БРФФИ (грант Б14Р-035).

Литература:

1. Панасенко О.М., Горудко И.В., Соколов А.В. Хлорноватистая кислота как предшественник свободных радикалов в живых системах. *Успехи биол. химии*. 2013. Т. 53. С. 195–244.
2. Горудко И.В., Черкалина О.С., Соколов А.В., Пулина М.О., Захарова Е.Т., Васильев В.Б., Черенкевич С.Н., Панасенко О.М. Новые подходы к определению концентрации и пероксидазной активности миелопероксидазы в плазме крови человека. *Биоорг. химия*. 2009. Т. 35. С. 629–639.
3. Kettle A.J., Winterbourn C.C. Assays for the chlorination activity of myeloperoxidase. *Methods Enzymol*. 1994. V. 233. P. 502–512.

МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ 2-ГЕКСАДЕЦЕНАЛЯ НА ФУНКЦИИ АСТРОГЛИИ

Семенкова Г.Н.¹, Амазгбери Н.В.¹, Лисовская А.Г.¹, Квачева З.Б.²,
Шадыро О.И.¹

¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

²Институт биофизики и клеточной инженерии, Минск, Беларусь

Транс-2-гексадеценаль (ГД) является продуктом ферментативного превращения сфингозин-1-фосфата (С1Ф) при действии С1Ф-лиазы [1]. Активация этого фермента приводит к смещению равновесия в сфингозиновом цикле, что изменяет вклад сфинголипидов в регуляцию таких процессов, как апоптоз, пролиферация, ангиогенез [2]. Исследования, проведенные с использованием клеточных культур НЕК и HeLa, показали, что этот альдегид проявляет биологическую активность, вызывая апоптоз посредством модификации цитоскелета и вмешательства в процессы внутриклеточной сигнализации [3]. Нами установлено, что ГД может образовываться неферментативным путем по свободно-радикальному механизму из сфинголипидов (сфингозин, С1Ф, сфингозин-1-фосфохолин) в модельных системах и в клетках, таких как НЕК и астроциты, при действии хлорноватистой кислоты, продуцируемой в организме в галогенирующем цикле миелопероксидазы (МПО) [4].

Источником НОС1 в мозге является нейрональная МПО и МПО тканевых нейтрофилов и макрофагов. При инсультах, черепномозговых травмах, экологических и нейродегенеративных заболеваниях в тканях мозга возникает галогенирующий стресс, в результате чего увеличивается вероятность свободнорадикальной деструкции сфинголипидов с образованием ГД.

С целью установления биологической роли ГД в мозге изучено влияние этого альдегида на свойства астроглии с использованием линии перевиваемых клеток глиомы крысы С6, которые проявляют свойства астроцитов.

Установлено, что ГД в широком диапазоне концентраций ингибирует пролиферативную активность клеток (рисунок 1). Изучение выживаемости астроцитов с использованием пропидиум йодида показало, что при действии ГД в концентрациях $3 \cdot 10^{-7}$ – $3 \cdot 10^{-5}$ моль/л количество выживших клеток такое же, как в контрольных образцах, а в концентрации $3 \cdot 10^{-4}$ моль/л выживаемость клеток резко снижается. Из этого следует, что снижение индекса пролиферации при высокой концентрации ГД связано с гибелью клеток по механизму некроза.

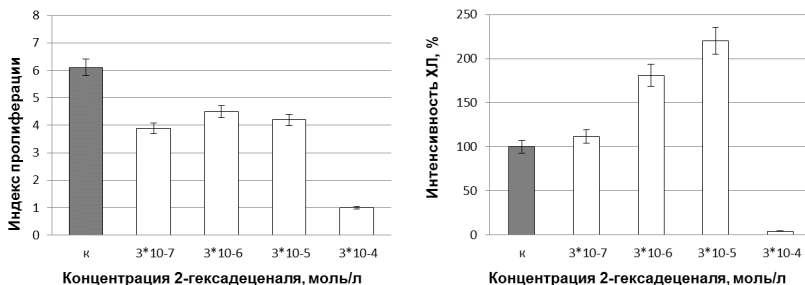


Рисунок 1 – Влияние ГД на пролиферативную активность и продукцию $O_2^{\cdot -}$ в астроцитах

Из рисунка 1 видно, что культивирование клеток С6 с ГД приводит к дозозависимому повышению интенсивности люцигенин-опосредованной хемилюминесценции астроцитов, обусловленной образованием супероксидных анион-радикалов. Снижение выхода $O_2^{\cdot -}$ при высокой концентрации ГД связано с разрушением клеток.

Методами световой и конфокальной микроскопии показано, что культивирование клеток с ГД дозозависимо снижает митотическую активность. При этом нарушается целостность монослоя, меняется форма клеток, укорачиваются отростки и нарушается их структура. Выявлено, что в клетках С6 при культивировании с ГД происходит перераспределение F-актина.

Таким образом, ГД вызывает реорганизацию цитоскелета и модификацию редокс-активности в клетках астроглии, что приводит к уменьшению их пролиферативной и митотической активности.

Литература:

1. Saba J.D., Garza-Rodea A.S. S1P lyase in skeletal muscle regeneration and satellite cell activation: Exposing the hidden lyase // BBA. – 1831(1). – 2013. – P. 167 – 175.
2. Young N., Van Brocklyn J.R. Signal transduction of sphingosine-1-phosphate G protein-coupled receptors // Sci World J. – 6. – 2006. – P. 946 – 966.
3. Kumar A., Byun H.S., Bittman R., Saba J.D. The sphingolipid degradation product trans-2-hexadecenal induces cytoskeletal reorganization and apoptosis in a JNK-dependent manner // Cell Signal. – 23. – 2011. – P. 11346 – 11353.
4. Shadyro O.I., Lisovskaya A.G., Semenkova G.N., Edimecheva I.P., Amaegberi N.V. Free-radical destruction of sphingolipids resulting in 2-hexadecenal formation // Lipid Insights. – 8. – 2015. – P. 1–9.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФАКТОРА ИНГИБИРУЮЩЕГО МИГРАЦИЮ МАКРОФАГОВ С ЦЕРУЛОПЛАЗМИНОМ

Соколов А.В., Костевич В.А., Грудина Н.А., Захарова Е.Т.,
Васильев В.Б.

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Провоспалительный цитокин, фактор ингибирующий миграцию макрофагов (MIF), является мишенью для фармакологической коррекции сепсиса и канцерогенеза и обладает ферментативными активностями таутомеразы и тиолоксидоредуктазы. Показано, что антитела, блокирующие MIF, препятствовали летальному эффекту при модели септического шока, а мыши, нокаутированные по гену MIF устойчивы к летальным дозам липополисахарида (LPS). Несмотря на многолетние исследования MIF в настоящее время в литературе дебатирован вопрос о физиологическом субстрате его ферментативных активностей. Показано, что сайт-направленный мутагенез MIF по аминокислотному остатку P1, который необходим для катализа изомеризации гидроксифенилпирувата (HPP), препятствует связыванию MIF с его клеточным рецептором CD74 и проведению провоспалительного сигнала. Таким образом, изучение модуляции таутомеразной активности MIF перспективно для коррекции его участия в воспалительных реакциях. При протеомном анализе мочи больных с инфекциями мочеполового тракта был обнаружен комплекс MIF с церулоплазмином (CP). Однако функциональная характеристика этого взаимодействия не была проведена. Белки острой фазы, концентрация которых повышается при воспалении, могут выступать регуляторами функций иммунных клеток. Увеличение молярной концентрации CP во время острой фазы воспаления (с 3 до 10 мкМ) уступает только увеличению концентрации таких мажорных белков плазмы, как фибриноген и гаптоглобин. Вместе с тем, в литературе нет однозначной точки зрения на функции CP при воспалении. Как фермент CP активно препятствует образованию и существованию свободных радикалов, обладая активностями ферроксидазы, купроксидазы, супероксиддисмутазы, глутатион-зависимой пероксидазы и NO-оксидазы. От присутствия гена CP зависит выживание нейронов при острофазном ответе на LPS. С другой стороны, прооксидантные свойства приписывают меди, лабильно связанной с CP.

Впервые показано ингибирование таутомеразной активности MIF в отношении HPP в присутствии CP. Необходимым элементом для ингибирования активности MIF является связывание лабильных ионов меди с

СР (СР+Cu(II)). Помимо 6 ионов меди прочно связанных с полипептидной цепью СР известно наличие в молекуле белка, по крайней мере, трех сайтов для связывания лабильных ионов меди. Два сайта были выявлены при кристаллографическом исследовании СР при насыщении кристаллов неорганическими солями меди (II), кобальта (II). Нами было показано, что в лабильные сайты можно встроить ионы никеля (II). Конформация остатков E971, D684 и H602 (4 домена) и E935, D1025 и H940 (6 доменов) различаются в структуре СР со свободными сайтами и занятыми ионами Ni (II). Так называемый прооксидантный ион меди был выявлен при изучении окисления липопротеинов низкой плотности СР. Этот ион связан с остатком H426 и не связывается с ним после обработки белка диэтилпиокарбатом (DEPC). Показано, что СР+Cu(II) является бесконкурентным ингибитором MIF ($K_i \sim 37$ нМ). Аргументом в пользу участия ионных сил при формировании комплекса MIF-HPP-СР+Cu(II) является снижение ингибирующего эффекта СР+Cu(II) при повышении концентрации боратного буфера в среде. Ингибирующий эффект СР+Cu(II) не зависел от степени ограниченного протеолиза белка. Фильтрация СР+Cu(II) через колонку с Chelex-100 либо присутствие высоких концентраций гистидина, цистеина либо метионина лишали СР ингибирующего эффекта. Модификация остатков гистидина в СР с помощью DEPC не повлияла на его способность ингибировать MIF в присутствии меди. Добавление солей Co (II) и Ni (II), замещающих ионы меди в лабильных сайтах, препятствовало ингибирующему эффекту СР+Cu(II). Ковалентная модификация активного центра MIF фенилметилсульфонилфторидом (PMSF) приводила к сорбции MIF-PMSF на СР иммобилизованном на чипе CM5 с константой диссоциации 4,2 мкМ. При введении D-галактозамин-сенситизированным мышам 5 мг СР+Cu(II) смертность от введения 200 нг LPS увеличивалась с 54 до 100%, при этом 5 мг аффинных антител против MIF препятствовали летальному эффекту. Вероятно, лабильные ионы меди в СР могут потенцировать *in vivo* провоспалительный сигнал MIF. Исследование поддержано грантом РФФИ № 13-04-01186. Авторы выражают благодарность О.Ю. Третьякову за любезно предоставленную плазмиду ptt100, содержащую последовательность ДНК, соответствующую полноразмерному гену MIF человека.

РАЗРАБОТКА НОВЫХ МЕТОДОВ СТАБИЛИЗАЦИИ И ТЕХНОЛОГИЙ ПРОИЗВОДСТВА ЛЬНЯНОГО МАСЛА И БАД НА ЕГО ОСНОВЕ

Сосновская А.А., Едимечева И.П., Шадыро О.И.

Учреждение БГУ «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем», Минск, Беларусь

Льняное масло является самым богатым растительным источником альфа-линоленовой кислоты (АЛК), относящейся к семейству полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) омега-3, необходимых для сбалансированного питания. Большое содержание в льняном масле АЛК (49-66 % от суммы жирных кислот) с тремя реакционноспособными двойными связями в молекуле обуславливает высокую склонность льняного масла к окислению, в том числе и капсулированных форм, и как следствие изменение вкуса (прогоркание), запаха, цвета и полезных свойств за короткое время хранения (3–5 месяцев), что ограничивает широкое внедрение льняного масла на рынок фармацевтических и пищевых продуктов.

В лаборатории химии свободнорадикальных процессов НИИ ФХП БГУ проводятся исследования по разработке эффективных методов стабилизации льняного масла. Определены состав композиций жирных кислот, жирорастворимых витаминов и других эндогенных антиоксидантов, а также окислительная стабильность льняного масла, полученного из семян различных сортов льна масличного и льна-долгунца, в зависимости от условий отжима масла, условий возделывания льна, сроков хранения семян. Для ингибирования процессов окисления и окислительной деструкции ненасыщенных компонентов льняного масла использовали промышленные и природные антиоксиданты и их композиции, лекарственное и пряно-ароматическое растительное сырье, семена бобовых. Найдены эффективные и безопасные природные стабилизаторы на основе семян фасоли и сои, позволяющие существенно (в 2,5–3 раза) увеличить устойчивость к окислению и сроки хранения масла. Разработана и внедрена в производство технология производства устойчивого к окислению пищевого льняного масла «Лянок» с использованием фитокомпозиции на основе семян бобовых культур. Преимущество технологии состоит в высокой эффективности и безопасности новых природных ингибиторов окисления, снижении стоимости стабилизации по сравнению с известными зарубежными и отечественными технологиями.

Благодаря большому содержанию ПНЖК омега-3 льняное масло широко используется для создания на его основе биологически активных

добавок к пище (БАДов), обладающих уникальными лечебно-профилактическими свойствами за счет совместного действия компонентов льняного масла и добавок биологически активных веществ (БАВ). С целью разработки новых устойчивых к окислению БАДов на основе льняного масла было изучено влияние добавок ряда БАВ: коэнзима Q₁₀, каротиноидов (β-каротина, лютеина, зеаксантина), различных форм витамина Е, жирорастворимых производных аскорбиновой кислоты, соединений органического селена, а также масла из семян расторопши пятнистой на окислительную стабильность льняного масла в зависимости от концентрации и состава композиций добавок, а также условий хранения. Получены кинетические закономерности накопления в льняном масле пероксидных соединений, карбонильных продуктов окисления (α- и β-ненасыщенных альдегидов) и свободных жирных кислот, а также расщепления БАВ в процессе хранения масла без добавок и с добавками БАВ в различных условиях. Установлено, что добавление к льняному маслу некоторых БАВ (коэнзим Q₁₀, каротиноиды) в определенных интервалах концентраций приводит к интенсификации протекающих в масле процессов окисления. Показано, что для обеспечения антиокислительной защиты БАДов на основе льняного масла в качестве ингибиторов окисления могут быть использованы жирорастворимые производные аскорбиновой кислоты и их композиции с разработанными нами для пищевого льняного масла стабилизирующими композициями на основе семян бобовых, позволяющие существенно тормозить свободнорадикальные процессы окисления и окислительной деструкции ПНЖК и других ненасыщенных компонентов льняного масла и БАДов на его основе, за счет чего существенно увеличить устойчивость к окислению и сроки хранения таких нутриентных продуктов.

На основании проведенных исследований разработаны рецептуры и технологии получения шести устойчивых к окислению БАДов на основе льняного масла, обладающих антиоксидантным, радиопротекторным, антиканцерогенным, общеукрепляющим, иммуностимулирующим, адаптогенным, геропротекторным действием: Срок годности новых БАДов составляет 12 месяцев, БАДа с коэнзимом Q₁₀ – 9 месяцев. Получены свидетельства о государственной регистрации БАДов. На предприятии ООО «Клуб «Фарм-Эко» в 2014-2015 гг. организовано их производство.

КОНЦЕНТРАЦИЯ NO МЕТАБОЛИТОВ В КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ПРЕХОДЯЩИХ НАРУШЕНИЯХ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

Стародубцева М.Н., Галиновская Н.В., Липская Е.А., Воропаев Е.В.

Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

Проблема цереброваскулярных заболеваний является одной из основных проблем современной медицины в связи с их большой распространенностью, высоким процентом смертности и инвалидизации. У людей, перенесших преходящие нарушение мозгового кровообращения (ПНМК, включающее, по различным литературным данным, транзиторные ишемические атаки (ТИА), церебральный гипертензивный криз (ЦГК) и транзиторную глобальную амнезию) инфаркт мозга развивается в течение месяца в 4-8% случаев, а в течение 5 лет – в 30% случаев. В основе неврологических дисфункций при ПНМК лежат механизмы ишемии-реперфузии вещества мозга. Как при развитии ишемии, так и при восстановлении кровотока в тканях мозга образуются в высоких концентрациях активные формы кислорода и азота (АФК и АФА), которые считаются одними из основных участников патологического процесса. NO является первичной формой АФА, образуемой в организме ферментативно с помощью NO-синтаз, экспрессируемых и активированных в клетках иммунной системы и эндотелия при стрессовом воздействии на организм. Такие АФА, как NO_2 и $\text{ONOO}^-/\text{HOONO}$, образуются в реакциях NO с другими молекулами в клетках и тканях организма. Конечными «квазистабильными» продуктами метаболизма NO в организме являются нитрит- и нитрат-ионы (NO_x).

Целью работы являлось выявление особенностей распределения NO_x в крови пациентов с ПНМК, закономерностей ее изменения в процессе их нахождения в стационаре и связи концентраций NO_x , маркеров воспаления (интерлейкинов: ИЛ-6 и ИЛ8, С-реактивного белка (СРБ) и фермента аниоксидантной защиты - супероксиддисмутазы (СОД)).

В работе исследовано изменение концентрации NO_x в крови больных с ПНМК (ТИА и ЦГК), находившихся на стационарном лечении в учреждении "Гомельский областной клинический госпиталь инвалидов Отечественной войны" (31 женщина и 19 мужчин, средний возраст $64,8 \pm 2,7$ года), в период нахождения их в стационаре в течение 10 дней. При лечении применялась стандартная схема без использования нитрат-содержащих лекарственных препаратов. Концентрацию NO_x в сыворотке крови определяли с помощью модифицированного метода Грисса, уро-

вень ИЛ-6 и ИЛ-8, СРБ определяли метода иммуноферментного анализа, активность СОД в крови оценена с помощью реакции автоокисления адреналина.

Полученные распределения концентрации NO_x при поступлении и при выписке пациентов из стационара были аппроксимированы кривыми, представляющими собой сумму двух функций Гаусса, что соответствовало наличию в популяции двух групп с высокими и низкими концентрациями NO_x , связанными с нахождением иммунной системы и эндотелия в активном и относительно спокойном состояниях, соответственно. Выявлено, что переход организма из состояния с низкой концентрацией NO_x в состояние с высокой концентрацией NO_x сопровождается повышением производства пероксинитрита, что подтверждает выявленная отрицательная корреляция между концентрацией NO_x и активностью СОД в крови. Установлено, что при относительно высоком уровне активности СОД в плазме крови организм после острого ПНМК не переходит в состояние с активированной иммунной системой и эндотелием. При снижении активности СОД в плазме крови после ПНМК, вызванного ишемией ткани мозга, организм в течение 10 суток переходит в состояние с активной иммунной системой и эндотелием, которое характеризуется повышенной концентрацией NO_x и маркеров воспаления (ИЛ-6 и СРБ). При снижении активности СОД в плазме крови после ПНМК, вызванного артериальной гипертензией, организм в течение 10 суток переходит в состояние с относительно спокойной иммунной системой и эндотелием, которое характеризуется низкой концентрацией NO_x и маркеров воспаления (ИЛ-6 и СРБ), хотя при этом концентрация ИЛ-8 повышается.

Анализ динамики концентрации NO_x и маркеров воспаления (ИЛ-6 и ИЛ-8, СРБ и активности СОД) в плазме крови позволяет улучшить диагностику и прогноз возникновения инфаркта мозга после ПНМК.

Работа выполнялась в рамках ГПНИ РБ «Медицина и фармация» и проекта БРФФИ М13-081.

СИНТЕЗ СТАБИЛЬНЫХ ФЕНОКСИЛ-НИТРОКСИЛЬНЫХ РАДИКАЛОВ И ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ИХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ, ПРОИЗВОДНЫХ ИМИДАЗОЛА С *n*-ГИДРОКСИАРИЛЬНЫМ ЗАМЕСТИТЕЛЕМ

Тен Ю.А.¹, Амитина С.А.¹, Гаас Н.А.², Кандалинцева Н.В.²,
Мажукин Д.Г.^{1,3}

¹ФГБУН Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова
СО РАН, Новосибирск, Россия

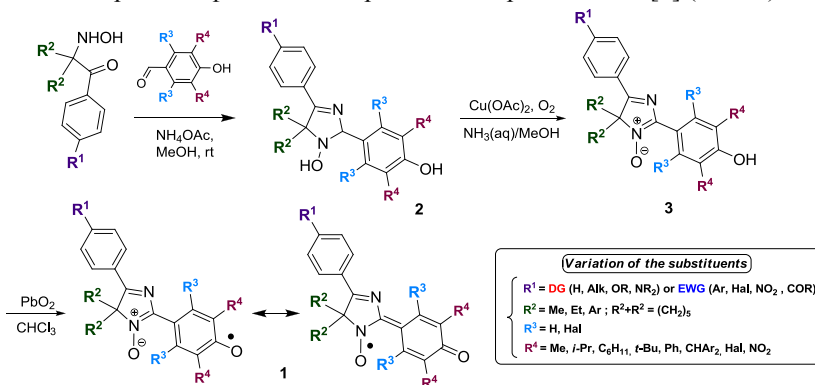
²ФГБОУ ВПО Новосибирский государственный педагогический университет,
НИИ химии антиоксидантов, Новосибирск, Россия

³ФГБОУ ВПО Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

Устойчивые моно, би и полирадикалы, стабилизированные наличием нескольких мезомерных группировок в молекуле, представляют интерес в качестве:

- электроактивных компонентов для создания полностью органических гибких перезаряжаемых аккумуляторов;
- структурных элементов в дизайне молекулярных магнитов (SMMs – single molecular magnets) и ферромагнетиков;
- стехиометрических и каталитических окислителей для спиртов, енолятов, алкенов, карбанионов и др.
- медиаторов радикальной полимеризации, спиновых меток и др.

Ранее нами сообщалось о получении первых представителей нового класса гибридных феноксил-нитроксильных радикалов **1** [1] (Схема).



Целью настоящего исследования является расширение круга получаемых соединений для последующего изучения их физико-химических характеристик, установления влияния вводимых заместителей (донорных и акцепторных групп, а также пространственно-затрудненных фрагментов) на стабильность и магнитные свойства радикалов. Нами было обнаружено, что предшественники гибридных радикалов (1-гидрокси-3-имидазолины **2** и нитроны ряда 4*H*-имидазола **3**) обладают выраженной антиоксидантной активностью (в модельной реакции АИБН-инициированного окисления кумола при 60°C), превышающей таковую для стандартного ионола.

Значения k_7 и f (коэффициент ингибирования, равный среднему числу цепей окисления, обрываемых в расчете на 1 феноксильную группу ингибитора) для некоторых предшественников гибридных феноксил-нитроксильных радикалов приведены в таблице:

R^1	R^4	R^4	f	$k_7 \cdot 10^{-4},$ $M^{-1}c^{-1}$
1-Гидрокси-3-имидазолины (2), $R^2=Me$, $R^3=H$				
H	Me	Me	3.9 ± 0.3	5.1 ± 0.8
H	i-Pr	i-Pr	4.0 ± 0.1	4.5 ± 0.1
H	t-Bu	t-Bu	3.2 ± 0.3	4.0 ± 0.3
Br	Me	Me	4.44 ± 0.2	6.4 ± 0.1
Циклические нитроны ряда 4 <i>H</i> -имидазола (3), $R^2=Me$, $R^3=H$				
H	Me	Me	2.1 ± 0.1	6.0 ± 0.6
H	i-Pr	i-Pr	2.1 ± 0.1	5.1 ± 0.5
H	t-Bu	t-Bu	1.9 ± 0.2	4.1 ± 0.7
Br	Me	Me	2.4 ± 0.1	5.5 ± 0.4
(Стандарт) Ионол (дибунол)				3.1

Авторы благодарят фонд РФФИ (проект № 15-03-02741) за финансовую поддержку исследования.

Литература:

1. D. Mazhukin, A. Lomanovich, O. Salnikov, A. Bogomyakov, S. Amitina, A. Burdukov, E. Boguslavsky, Y. Gatilov and I. Grigor'ev, *Abstr. of the 6-th SPIN Int. Conf.*, Marseille, France, **2011**, 31.

УРОВЕНЬ КИСЛОРОДА И СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В БИОСИСТЕМАХ

Шадыро О.И.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Концентрация кислорода в биосистемах является критическим параметром, определяющим их выживание и нормальное существование. В зависимости от типа органа, тканей и клеток уровень кислорода варьируется в пределах от 1 до 15 %. Так, в артериальной крови концентрация O_2 достигает 13 % ($pO_2 = 100$ мм Hg), а в поверхностных клетках кожи не превышает 1,5 %. Сердечно-сосудистые, онкологические заболевания развиваются в условиях гипоксии, когда уровень O_2 , как в случае злокачественных опухолей, ниже 1 %.

Известно, что свободнорадикальные процессы играют важную роль в функционировании организма. Причем эта роль неоднозначна, т.к. в зависимости от выраженности и локализации таких процессов они от жизненно необходимых могут стать причиной повреждения биоструктур. На вероятность реализации свободнорадикальных реакций существенное влияние оказывает кислород. Влияние кислорода может происходить на разных стадиях гомолитических превращений – от возникновения инициаторов (активные формы кислорода) до реакций развития и обрыва цепных процессов окисления и деструкции биологически важных веществ.

Электронное строение кислорода предопределяет его высокую реакционную способность по отношению к радикалам органических соединений. Диффузионно-лимитируемая реакция O_2 с углеродцентрированными радикалами биомолекул приводит к их окислению и окислительной деструкции, что считается основной причиной повреждения липидов, нуклеиновых кислот, протеинов и образования цитотоксических продуктов. В наших работах показано, что в условиях пониженного содержания кислорода радикалы, образующиеся из гидроксилсодержащих биомолекул, до взаимодействия с O_2 успевают фрагментировать по различным направлениям, и это приводит к их повреждению и образованию биоактивных продуктов. Такие реакции доминируют при взаимодействии активных форм кислорода с углеводами, гидроксилсодержащими глицерофосфолипидами, аминокислотами, пептидами и сфинголипидами.

В докладе будут обсуждены вопросы, связанные с влиянием кислорода и структуры биологически важных веществ на вероятность протекания их различных свободнорадикальных превращений, возможные последствия реализации таких процессов и способы управления ими.

ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ РАСТЕНИЙ КАК АНТИОКСИДАНТЫ, ИХ ИЗМЕНЕНИЯ В ОНТОГЕНЕЗЕ И ПРИ ОБРАБОТКЕ СТИМУЛЯТОРАМИ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ

Шутова А.Г., Шиш С.Н., Деева А.М.

ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси», Минск, Беларусь

Растения обладают достаточной устойчивостью к окислительному стрессу, который возникает при воздействии различных внешних факторов или при резком изменении физиологического состояния растения. Это обусловлено существованием в растительной клетке эффективных защитных систем, основу которых составляют антиоксиданты различной структуры.

Целью нашей работы являлась сравнительная оценка состава и свойств антиоксидантов перспективных лекарственных, пряноароматических и хозяйственно-ценных видов и сортов растений аборигенной флоры Беларуси и интродуцентов, представляющих интерес в качестве потенциального источника антиоксидантов, а также изменения в составе антиоксидантных систем растений на различных этапах онтогенеза и под воздействием обработки сверхмалыми дозами стимуляторов и низкоинтенсивным электромагнитным воздействием. Объекты исследования: тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium*), многоколосник морщинистый (*Agastache rugosa*), монарда дудчатая (*Monarda fistulosa*), душица обыкновенная (*Origanum vulgare*), чернушка посевная (*Nigella sativa*), календула лекарственная (*Calendula officinalis*), голубика высокая (*Vaccinium corymbosum*).

Изучена антирадикальная активность экстрактов и эфирных масел растений, собранных в различных фазах роста и развития. Показана высокая антиоксидантная активность эфирных масел монарды дудчатой и многоколосника морщинистого. В модельной системе с радикалами 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила наибольшей антиоксидантной активностью обладал экстракт тысячелистника обыкновенного, собранного на стадии вегетации в отличие от растений, находившихся в фазах бутонизации и цветения.

Проведенные исследования по влиянию обработки сверхмалыми концентрациями эпина, аминолевулиновой кислоты и и различными режимами электромагнитного излучения миллиметрового диапазона семян лекарственных растений *Nigella sativa* и *Calendula officinalis* показали видо- и дозоспецифичность ответа антиоксидантной системы этих растений.

Изучение динамики содержания фенольных соединений, антоцианов, пигментов, участвующих в фотосинтезе, во взаимосвязи с антиоксидантной активностью плодов голубики высокой 14 сортов и в процессе их созревания показало, что в процессе созревания *V. corymbosum* происходит значительное накопление антоциановых пигментов на фоне относительного количественного постоянства других низкомолекулярных антиоксидантов и снижения активности каталазы.

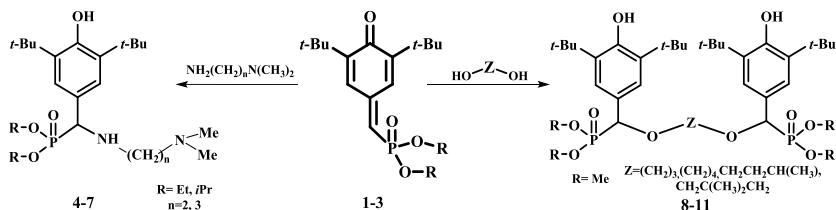
NEW ANTIOXIDANTS BASED ON PHOSPHORUS-CONTAINING HINDERED PHENOLS

Azmukhanova R.R., Gibadullina E.M., Burilov A.R., Budnikova Y.G.

*A.E. Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, Kazan Scientific Center,
Russian Academy of Sciences, Kazan, Russian Federation*

Sterically hindered phenols are the most interesting among the known antioxidants through the variety of chemical properties and biological activity. The presence in the molecule of several reaction centers provides inhibition of oxidative processes by different mechanisms: hindered phenolic moiety is realize antiradical defense, the phosphoryl moiety is responsible for the ability to inhibit the reactions of hydroperoxides nonradical destruction.

The interaction of methylenequinones **1-3** with propane-1,3-diol, 2,2-dimethylpropane-1,3-diol, butane-1,3-diol, butane-1,4-diol, N¹, N¹-dimetiletane-1,3-diamine, N¹, N¹-dimethylpropane-1,3-diamine results in new antioxidants **4-11**, containing phosphoryl and sterically hindered phenol structural fragments.



The structure of synthesized compounds was proved by NMR ^1H , ^{31}P , ^{13}C , IR spectroscopy, mass spectroscopy (MALDI) and element analysis.

Acknowledgement:

This work was supported by the Russian Science Foundation (grant no. 14-23-00016).

ETHANOLIC EXTRACT OF POLISH PROPOLIS (EEP) IN REACTION WITH FREE RADICALS

Czuba Z.P., Seget S., Krol W.

*School of Medicine with the Division of Dentistry in Zabrze, Medical University of Silesia
in Katowice, Chair and Department of Microbiology and Immunology, Poland*

Propolis (bee glue) is a resinous product found in bee hives where it is used by honeybees as cement and to seal cracks or open spaces. Honeybees collect propolis from tree buds and other botanical sources. The chemical composition of propolis varies considerably from region to region along with vegetation and from season to season. Among other properties propolis shows antioxidant activity. It is mainly depended on concentration of many phenolic compounds, flavonoids and their derivatives. Complex and not fixed chemical composition can influence the antioxidant property. In our study an ethanolic extract of Polish propolis (EEP) was used.

Antioxidant activity was measured applying three methods:

1. DPPH radical scavenging activity

To 0.04 ml test sample was added 0.120 ml methanol. Then the sample was mixed with 0.04 ml DPPH in methanol about ($A_{524\text{nm}} = 0.900 \pm 0.020$). After 15 min the optical density of the sample was measured at 524 nm. Next, we set the curve for Trolox and EEP.

2. ABTS radical scavenging activity.

ABTS was dissolved in distilled water to a 7 mM concentration. ABTS radical cation (ABTS^{•+}) was produced by reacting ABTS stock solution with 2.45 mM potassium persulfate (final concentration) and allowing the mixture to stand in the dark at room temperature for 16 h before use. Then a solution of 0.180 ml of dilute ABTS^{•+} + ($A_{734\text{nm}} = 0.700 \pm 0.020$) was added 0.2 ml test sample. Then the sample was incubated 15 min. The optical density of the sample was measured at 734 nm. Next, we set the curve for Trolox and EEP.

3. Ferric reducing-antioxidant power (FRAP) assay

To 0.180 ml of the working compound (0.3 M acetate buffer pH 3.6, 10 mM 2,4,6-Tris (2-pyridyl) -s-triazine TPTZ 40 mmol/l HCl; 20 mM FeCl₃, in ratio of 10:1:1) was added 0.02 ml test sample. After 15 min the optical density of the samples were measured at 593 nm and set the curves.

The obtained result:

EEP: ID_{50 DPPH} = 13.9 µg/ml; ID_{50 ABTS} = 8.4 µg/ml

Trolox: ID_{50 DPPH} = 46.0 µg/ml; ID_{50 ABTS} = 141.4 µg/ml.

The used methods could be helpful in standardization of propolis extracts.

SILVER NANOPARTICLES DO NOT CATALYSE HABER-WEISS CYCLE BUT THEY OXIDISE ASCORBATE BOTH *IN VITRO* AND *IN VIVO*

Demidchik V.V.¹, Przhevalskaya D.A.¹, Svistunenko D.A.²

¹*Department of Plant Cell Biology and Bioengineering, Biological Faculty,
Belarusian State University, Minsk, Belarus*

²*School of Biological Sciences, University of Essex, Colchester, United Kingdom*

Silver nanoparticles (Ag NPs) have gained particular attention from industrialists due to their relatively low cost of production and tremendously enhanced physical/chemical characteristics. Since the 19th century, the unique antimicrobial and fungicidal properties have been encouraging very wide utilization of Ag NPs in medical products, fabrics, antiseptics, food containers, cosmetics, paints, and even plush toys. As a result, Ag NPs have been the most widely used nanotechnology products in the world over the last century. Nowadays, nearly 25% of all nanotechnology consumer products include Ag NPs (according to Inventory of Nanotechnology Consumer Products). The dramatic increase in industrial use of Ag NPs has raised considerable concern about their potential release and effects on flora and ecosystems, as well as the possibility of it entering human food chain through plants. Silver does not have any established function in plants or animals and has been acknowledged as a trace element. Only few reports have dealt with investigation of the effects of Ag⁺ and engineered Ag NPs on living systems at the molecular and cellular level. Ag NPs were shown to promote long-term redox imbalance and oxidative stress in a number of organisms however the mechanism of this toxic effect remains largely unclear. It was recently shown that, under very alkaline pHs, Ag NPs react with H₂O₂, forming Ag⁺ and 'O₂⁻, and further with 'O₂⁻ to give "negatively charged Ag NPs" and O₂. Negatively charged Ag NPs can interact with ionic silver (Ag⁺) by reducing it to metallic Ag⁰, promoting formation of new Ag NPs. Thus Ag NPs can potentially behave as a transition metal ions (such as copper or iron). This has raised a question about possible production of hydroxyl radicals through transition metal catalysed Haber-Weiss cycle involving H₂O₂ and ascorbate, which are both are present in living cells. Here, this hypothesis was tested using Electron Paramagnetic Resonance (EPR) spectroscopy. Another possibility is that Ag NPs affect cell anti-oxidants, such as L-ascorbic acid, thus decreasing the reducing power and causing accumulation of oxidizing and oxidized species. This question was also addressed in the present study. To examine the capacity of inducing hydroxyl radical generation by Ag NPs, 5,5-dimethyl-pyrroline N-oxide (DMPO) was applied with Fenton-like mixture with Ag NPs or bulk used in-

stead of the transition metal (30-15000 mg L⁻¹ Ag NPs or bulk were tested). In contrast to the standard mixture (containing 1 mM CuCl₂ instead Ag NPs), the NP-containing mixture was ineffective in the producing characteristic four-peak spectrum of hydroxyl radical DMPO adducts. However, Ag NPs caused the appearance of an ascorbyl radical-specific signal which showed the classical two-peak shape spectrum. Ascorbyl radicals are the products of ascorbate oxidation, relatively long-living and having distinct characteristic spectrum. An addition of natural plant radical scavenger mannitol (1 mM) or key antioxidant glutathione (1 mM) resulted in the disappearance of the ascorbyl radical signal, suggesting that these substances are capable of protecting ascorbate from Ag-NP mediated oxidation. Interestingly, Ag NPs did not induce generation of mannitol or glutathione radicals. Thiourea, caused an effect, which was similar to that of glutathione while bulk or supernatant did not induce ascorbyl radical signal. Application of Ag NPs (3000 and 15000 mg L⁻¹) to intact roots (sterile seedlings of *Arabidopsis thaliana* L. plants) resulted in characteristic ascorbyl radical peaks, which was sensitive to a number of free radical scavengers. High concentrations of H₂O₂, which are known to cause the oxidation of L-ascorbic acid, also induced the formation of the ascorbyl radicals (used as a positive control). Addition of bulk particles or supernatant did not result in the formation of ascorbyl radicals in intact roots. Overall, these results showed that Ag NPs can promote redox imbalance and oxidative stress through affecting cell ascorbate pool but not via production of hydroxyl radicals.

REACTION OF CHOSEN COMPOUNDS FOUNDED IN EEP WITH FREE RADICALS

Seget S., Drozd M., Czuba Z.P., Krol W.

School of Medicine with the Division of Dentistry in Zabrze, Medical University of Silesia in Katowice, Chair and Department of Microbiology and Immunology, Zabrze, Poland

Antioxidant activity of ethanolic extract of Polish propolis (EEP) depends on its chemical composition. Our previous study allowed to identify main phenolic compounds, flavonoids and their derivatives in our EEP. In this study we tested selected compounds (the highest concentration in sample of EEP): caffeic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid and chrisin using three below methods:

1. DPPH radical scavenging activity.

To 0.04 ml test sample was added 0.120 ml methanol. Then the sample was mixed with 0.04 ml DPPH in methanol about ($A_{524nm} = 0.900 \pm 0.020$).

After 15 min the optical density of the sample was measured at 524 nm. Next, we set the curves for Trolox and studied compounds.

2. ABTS radical scavenging activity.

ABTS was dissolved in distilled water to a 7 mM concentration. ABTS radical cation (ABTS^{•+}) was produced by reacting ABTS stock solution with 2.45 mM potassium persulfate (final concentration) and allowing the mixture to stand in the dark at room temperature for 16 h before use. Then a solution of 0.180 ml of dilute ABTS^{•+} ($A_{734\text{nm}} = 0.700 \pm 0.020$) was added 0.2 ml test sample. Then the sample was incubated 15 min. The optical density of the sample was measured at 734 nm. Next, we set the curves for Trolox and studied compounds.

3. Ferric reducing-antioxidant power (FRAP) assay.

To 0.180 ml of the working compound (0.3 M acetate buffer pH 3.6, 10 mM 2,4,6-Tris (2-pyridyl) -s-triazine TPTZ 40 mmol/l HCl; 20 mM FeCl₃, in ratio of 10:1:1) was added 0.02 ml test sample. After 15 min the optical density of the samples were measured at 593 nm and set the curves.

The obtained results indicate different activities tested compounds. The problem is more complicated if there are many mixed compounds.

SALINITY INDUCES PRODUCTION OF SUPEROXIDE ANION RADICALS IN *PHYSCOMITRELLA PATENS*

Zvanarou S.A., Przhevalskaya D.A., Demidchik V.V.

*Department of Plant Cell Biology and Bioengineering, Biological Faculty,
Belarusian State University, Minsk, Belarus*

The moss *Physcomitrella patens* is a model plant, which is widely used to investigate physiological reactions of plant cells at the molecular level and to produce pharmacologically active compounds. This moss has a dominant haploid phase allowing direct forward genetic analysis and manipulations with bioengineering tools. *Physcomitrella patens* can be easily cultured and maintained in the non-differentiated juvenile growth form (protonema form), which is convenient for study of developmental programmes, role of mutations and DNA damage response. Adult growth form (gametophores) contains leaf- and stem-like structures, and rhizoids (root-like organs) without vascular tissues. Leaves, rhizoids, and protonemal filaments consist of one layer of cells that facilitates microscopic observations of stress-induced and developmental modifications. Apart from annotated genome, the genomic resources for this plant include ESTs and full-length cDNA collections and microarrays. Growing in wet environment, this moss is normally not exposed to high salinity or

drought. Nevertheless, global warming leading to increased drought periods and soil salinisation can also affect mosses. At the moment, very few data can be found on how salt stress affects nonvascular plants, such as mosses and ferns. The aim of this study was to explore changes in growth and primary salt stress responses in *Physcomitrella patens*. In higher plants, NaCl (>40 mM) induces complex osmotic and ionic perturbations leading to oxidative stress. The mechanism of the salt-induced radical imbalance is related to the damage of electron transport chains and biosynthesis of oxygen-derived radicals *de novo* by HADPH oxidases, class III peroxidases and apoplastic oxidases. Here, superoxide anion radical production in response to NaCl was tested using fluorescent probe dihydroethidium, which is believed to be specific to superoxide, and fluorescent microscopy (Nikon Eclipse TS100F). Growth measurements showed that *Physcomitrella patens* protonema extension and gametophore expansion are significantly inhibited by NaCl starting from 100 mM. Stop of growth was found at 400 mM NaCl. This is indicative of relatively high salt tolerance of *Physcomitrella patens*. Fluorescent microscopy measurements using dihydroethidium demonstrated that superoxide is produced after treatment of moss with NaCl concentrations over 200 mM. Surprisingly, 100 mM did not cause superoxide generation. The pharmacological analysis of this effect demonstrated that it is sensitive to thiourea, reduced glutathione, polyamines, gadolinium ions and superoxide dismutase. Here, the model of molecular and cellular mechanisms of NaCl induced superoxide generation is proposed. Overall, this study showed that high [NaCl] is capable of inducing initial reaction of the oxidative stress (superoxide production) in the moss *Physcomitrella patens* which correlates with inhibition of growth in the same species.

БИОРАЗНООБРАЗИЕ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ ЦЕНТРАЛЬНО-КАЗАХСКОГО МЕЛКОСОПОЧНИКА – ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ИСТОЧНИКИ ПРИРОДНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ

Айдарханова Г.С., Кожина Ж.М.

Евразийский национальный университет им. Л.Н.Гумилева, Астана, Казахстан

Территория Центрально-Казахского мелкосопочника (ЦКМ) включает целый ряд глобально значимых экосистем. Лесные экосистемы островами, ленточной полосой расположены во всех природных зонах Казахстана. Северные пустыни, реликтовые еловые леса и уникальные горные экосистемы, расположенные на территории ЦКМ вошли в Глобальный Перечень Всемирного Фонда дикой природы. Международные, ре-

гиональные программы направлены на сохранение и восстановление ленточных боров Прииртышья, саксауловых насаждений Кызылординской области, поддержку лесохозяйственной отрасли республики, разработку и внедрение в практику экологических норм использования пастбищных угодий в лесных экосистемах. Итогом реализации задач этих проектов стали работы по воспроизводству лесов и лесоразведению на площади 108,7 тысяч гектаров. Зона лесостепи в Казахстане занимает небольшую территорию в районе городов Петропавловска и Кокшетау. Растительный покров представлен лесами (0,7 млн. га), богат разнотравными преобразованными степями с экосистемами осиново-березовых (*comm. Betula + Populus tremula*) и осиновых (*comm. Populus tremula*) лесов на серых лесных осолоделых почвах. Колочные леса лесостепи представлены мягколиственными породами: березами повислой, пушистой, нередко березой киргизской (*Betula pendula*, *B. pubescens*, *B. kirghizorum*), осиной (*Populus tremula*), ивами древовидными и кустарниковыми (*Salix triandra*, *S. caprea*, *S. rosmarinifolia*, *S. fragilis*, *S. alba* и др.), кустарниками: шиповниками (*Rosa acicularis*, *R. spinosissima*), таволгой (*Spiraea crenata*, *S. hypericifolia*), вишней степной (*Cerasus fruticosa*), кизильником (*Cotoneaster melanocarpa*) и др. Сосновые леса и редколесья с петрофитно-степными видами встречаются в Калбинских горах на Алтае и в низкогорных гранитных массивах Центрального Казахстана. Кроме горных регионов, сосновые леса на песках встречаются в Тургайском регионе и Прииртышье. Влажные сосновые леса являются хранилищем северных (бореальных) элементов флоры [1]. Среди объектов биоразнообразия выделены по приоритетам ленточные и островные боры, дикоплодовые и тугайные леса, горные редколесья, лесные массивы засушливых степей на черноземах, леса речных и озерных экосистем. На этих территориях в Казахстане произрастают 5754 видов высших растений, насчитывается 68 видов древесных пород, 669 видов кустарников и кустарничков, 2598 видов многолетних и 849 видов однолетних трав [2]. Многие виды растений являются источниками природных биологически активных соединений, обладающими антиоксидантными свойствами. Значимое место среди них занимают витамины, например С, Е, и предшественник витамина А – β -каротин. Кроме того, к антиоксидантам относятся глутатион, цистеин, метионин, лютеин, мелатонин, убихиноны, токоферолы, ретиноиды, флавоноиды, липоевая кислота и многие другие соединения, а также группа антиоксидантных ферментов. Это обуславливает повышенный интерес к поиску профилактических и лечебных антиоксидантных средств природного происхождения, основным преимуществом ко-

торых является их многостороннее и щадящее воздействие на организм, отсутствие или незначительность проявления побочных эффектов [3-4].

В наших исследованиях нами выполнена рекогносцировочная оценка биоразнообразия лесного типа растительности вблизи мест проведения ядерных испытаний на территории ЦКМ, включающая березово-осиновые колки, реликтовые рощи из черной ольхи с черемухой, калиной, боярышником, малиной, смородиной черной (красной), хвощом лесным и др. Выделены экспериментальные площадки, на которых произрастают ягоды (лесная земляника, костяника). Травянистые растения представлены тимьяном ползучим, вероникой седой, очитком, ромашкой и др. В связи с этим, значительный интерес представляет изучение биохимического состава растительного мира лесных экосистем.

Литература:

1. Отчет «Подготовка национального доклада республики Казахстан о биологическом разнообразии»//Гос.регистр.№О.0411.- Астана, 2010. -93с.
2. Концепция экологической безопасности РК на 2004 – 2015 годы, одобренной Указом Президента РК от 3 декабря 2003 года № 1241.
3. Adekenov S. M., Esenbaeva A. E., Kishkentaeva A. S., Atazhanova G. A. Hanphyllin and Jacquilenin from *Picris rigida* //Chemistry of Natural Compounds, Vol. 49, Issue 3, 2013. pp 530-531.
4. Zharylgasina G. T., Musina L. A., Bagryanskaya I. Yu., Shakirov M. M., Tuleuov B. I., Shul'ts E. E., Adekenov S. M. Alkaloids of *Eminium lehmannii* // Chemistry of Natural Compounds, Vol. 46, No. 1, 2010. pp. 154-157.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПИРИМИДИНОВЫХ АЗОТИСТЫХ ОСНОВАНИЙ С РАДИКАЛЬНЫМИ ПРОДУКТАМИ γ –РАДИОЛИЗА ДЕАЭРИРОВАННОГО ЭТАНОЛА

Бараев В.А.¹, Березянко И.А.¹, Баскалова Ю.О.¹, Свердлов Р.Л.^{1,2},
Едимечева И.П.², Шадыро О.И.^{1,2}

¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

²Учреждение БГУ «Научно-исследовательский институт
физико-химических проблем», Минск, Беларусь

Радикальные продукты радиолиты воды играют ключевую роль в повреждении биомолекул при действии ионизирующих излучений на организм. Основной радиобиологической мишенью считается молекула ДНК. Известно, что ядерная ДНК плотно упакована в белковый гистон, поэтому взаимодействие компонентов нуклеиновых кислот с продуктами радиолиты воды затруднено. Таким образом, ОН- и Н-радикалы, а также сольватированные электроны будут преимущественно реагировать с

белковым окружением ДНК, образуя углерод-центрированные радикалы белков [1,2]. В условиях гипоксии повреждение ДНК происходит в результате взаимодействия углерод-центрированных радикалов белков с азотистыми основаниями. Установлены многочисленные продукты взаимодействия азотистых оснований с углеродцентрированными радикалами различного строения, однако до сих пор нет единых представлений о механизме их образования. Установление основных закономерностей свободнорадикального повреждения нуклеиновых кислот в условиях гипоксии позволит более эффективно проводить терапию опухолей [3].

В настоящей работе было изучено взаимодействие пиримидиновых азотистых оснований и их производных (см. рисунок) с α -гидроксиэтильными радикалами (α -ГЭР), которые образуются при радиационно- и пероксидиндуцированных превращениях деаэрированного этанола. Вещественное инициирование свободнорадикальных процессов было использовано для установления роли сольватированного электрона в проявляемой азотистыми основаниями реакционной способности по отношению к α -ГЭР, так как в случае термически-индуцированного разложения ди-трет-бутилпероксида в деаэрированном этаноле не происходит генерации сольватированного электрона.

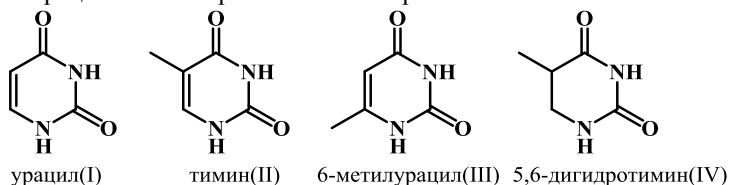


Рисунок – Структурные формулы исследуемых в работе соединений

В результате проведенных исследований было показано, что в присутствии соединений, содержащих в своей структуре фрагмент $-C=C-C=O$ (соединения I, II, III) происходит увеличение радиационно-химических выходов ацетальдегида и снижение выходов бутандиола-2,3, которые являются продуктами диспропорционирования и рекомбинации α -ГЭР, соответственно. Снижение выхода бутандиола-2,3 указывает на способность указанных соединений присоединять α -ГЭР, что подтверждается с использованием GC-MS и LC-MS. В случае урацила и тимина были обнаружены продукты присоединения α -ГЭР. Для 5,6-дигидротимина и 6-метилурацила аддукты углеродцентрированных радикалов обнаружены не были. Наблюдаемое в эксперименте увеличение выхода ацетальдегида в присутствии I, II и III указывает на способ-

ность исследуемых веществ окислять α -ГЭР или присоединять сольватированный электрон. Преимущественное протекание последнего процесса подтверждается снижением выходов образования продуктов присоединения α -ГЭР к добавкам в условиях вещественного инициирования свободнорадикальных процессов в сравнении с радиоллизом. Таким образом, показан существенный вклад сольватированных электронов в процесс образования сшивок углерод-центрированными радикалов с субстратом. Необходимым условием протекания процесса сшивки является наличие в пиримидиновых азотистых основаниях фрагмента $-C=C-C=O$.

Литература:

1. C. von Sonntag, Free-radical-induced DNA Damage and its repair. Berlin: Springer-Verlag, (2006) 523.
2. P. Wardman. The British Journal of Radiology, (2009) 82, 89–104.
3. G. Melillo, Hypoxia and Cancer: Biological Implications and Therapeutic Opportunities. Springer Science & Business Media, (2013) 362.

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС В ЭРИТРОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА И АКТИВАЦИЯ КАСПАЗЫ-3

Белевич Е.И., Костин Д.Г., Слобожанина Е.И.

*ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,
Минск, Беларусь*

Один из механизмов развития эритроптоза – запрограммированной гибели эритроцитов, связан с активацией в клетке каспаз. Окислительный стресс приводит либо к прямой, либо к опосредованной активации каспазы-8, которая затем протеолитически расщепляет прокаспазу-3 до эффекторной каспазы-3 [1]. Показано участие каспазы-3 в развитии эритроптоза при таких заболеваниях, как диабет второго типа [1] и почечная недостаточность [2]. С другой стороны, известно, что течение диабета второго типа [3] и сердечной недостаточности [4], сопровождаются окислительным стрессом и повышенным эритроптозом. В процессе своей жизнедеятельности эритроциты также постоянно подвергаются окислительному стрессу, что вносит существенный вклад в их старение. Обнаружена активность каспазы-3 и каспазы-8 в аннексин-V-положительных «изношенных» эритроцитах, выделенных из общей популяции эритроцитов крови [5]. Однако до настоящего времени вопрос об активации каспазы-3 при окислительном стрессе остается не ясным.

Цель работы – на модели эритроза, вызванного воздействием различных концентраций трет-бутилгидроперекиси (t-BHP), выяснить, происходит ли активация каспазы-3 в эритроцитах человека.

В работе использовали кровь здоровых доноров (консервант гепарин), полученную из РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий МЗ РБ. Эритроциты получали из крови путем центрифугирования и трижды отмывали в 155 mM NaCl (4°C, 3000 об/мин). Окислительный стресс в эритроцитах вызывали инкубацией суспензии клеток (2 %-ный гематокрит) с 0,2 mM, 1 mM и 2 mM t-BHP при 37°C в течение 15 мин. Для оценки активности каспазы-3 использовали набор CaspGlow™, содержащий специфический свободно проникающий в клетку флуорогенный субстрат каспазы-3 – FITC-DEVD-fmk и нефлуоресцирующий ингибитор каспаз Z-VAD-fmk. Флуоресцентные измерения выполнены с помощью проточного цитофлуориметра BD FACS Canto II (Becton Dickinson, США).

Из рисунка 1 видно, что активность каспазы-3 в эритроцитах, предварительно проинкубированных с ингибитором каспазы-3 Z-VAD-fmk, а затем подвергшихся окислительному стрессу, не отличалась от контроля. Однако, при окислительном стрессе, вызванном воздействием 0,2 mM t-BHP в течение 15 мин при 37°C, происходила активация каспазы-3 у $13,8 \pm 5,0\%$ клеток по сравнению с контрольными эритроцитами.

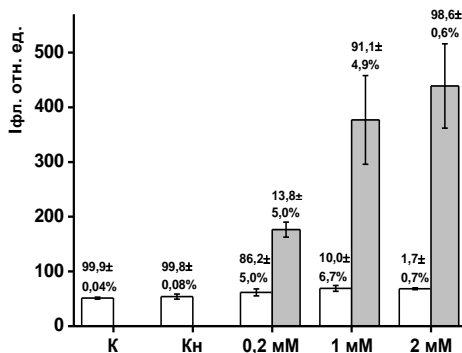


Рисунок 1 – Активность каспазы-3 (I фл. ингибирующего субстрата FITC-DEVD-fmk, отн.ед.): в контрольных эритроцитах (К); в эритроцитах, предварительно проинкубированных с ингибитором каспазы-3 Z-VAD-fmk, а затем подвергшихся окислительному стрессу (Kn – негативный контроль); в эритроцитах, обработанных 0,2 mM t-BHP (0,2 mM), 1 mM t-BHP (1 mM) и 2 mM t-BHP (2 mM).

В данной фракции эритроцитов интенсивность флуоресценции расщепленного субстрата FITC-DEVD-fmk была в 3,5 раз выше чем контрольных клетках. Воздействие 1 мМ t-BHP приводило к активации каспазы-3 у $91,1 \pm 4,9\%$ эритроцитов, при этом уровень интенсивности флуоресценции расщепленного субстрата FITC-DEVD-fmk в данной группе клеток был в 7,4 раза выше, чем в контроле. Обработка эритроцитов 2 мМ t-BHP вызывала активацию каспазы-3 в $98,6 \pm 0,6\%$ клеток, а интенсивность флуоресценции расщепленного субстрата FITC-DEVD-fmk возрастала в 8,6 раза по сравнению с контролем.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что в эритроцитах человека при окислительном стрессе, вызванном краткосрочным воздействием t-BHP, происходит дозозависимая активация каспазы-3.

Литература:

1. Maellaro E. et. al. // Acta Diabetol. 2013. V.50 №4. P. 489–495.
2. Polak-Jonkisz D. et. al. // Clin. Biochem. 2013. V. 46. P. 219–224.
3. Calderón-Salinas J.V. et. al. // Mol. Cell. Biochem. 2011. V. 357. № 1-2. P. 171–179.
4. Mahmud H. et. al. // Cardiovasc. Res. 2013. V. 98. № 1. P. 37–46.
5. Bratosin D. et al. // Cytometry A. 2009. № 75A. P. 236–244.

ПРОТИВОГЕРПЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ N-АЦИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 2-АМИНО-4,6-ДИ-ТРЕТ-БУТИЛФЕНОЛА НА КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК

Бореко Е.И.¹, Шадыро О.И.², Фроленков К.А.³

¹НИИ эпидемиологии микробиологии, Минск, Беларусь

²Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

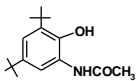
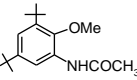
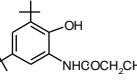
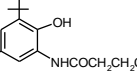
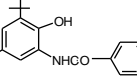
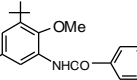
³РУП «Белмедпрепараты», Минск, Беларусь

Общим недостатком противовирусных препаратов является быстрое развитие лекарственной устойчивости возбудителя. Особую актуальность эта проблема приобрела для борьбы с герпетической (из-за возникновения ацикловир-резистентных штаммов) инфекцией [1]. Проблема привыкания вынуждает создавать новые препараты и реализовывать новые подходы к ингибированию репродукции вирусов (искать новые мишени). Кроме того, современные противовирусные препараты, особенно производные неклеозидов, наряду с высокими вирусингибирующими свойствами потенциально опасны нежелательными побочными эффектами вследствие возможного воздействия на генетический аппарат «клетки-хозяина». В связи с этим для ингибирующего воздействия на

цикл размножения вирусов весьма привлекательными являются этапы взаимодействия вируса и «клетки-хозяина», не связанные непосредственно с процессами кодирования и реализации генетической информации вируса. Такими свойствами могут обладать N-ацильные производные 2-амино-4,6-ди-трет-бутилфенола.

Результаты фармакологического тестирования синтезированных соединений на клеточных культурах представлены в таблице.

Таблица – Токсические и вирусингибирующие свойства N-ацильных производных 2-амино-4,6-ди-трет-бутилфенола на культуре клеток

№	Структурная формула соединения	МПК, мкМ	ЭК ₅₀ , мкМ	МПК/ ЭК ₅₀
1		379,18	8,54	44,40
2		400,00	798,00	0,50
3		720,83	38,20	18,87
4		342,34	3,80	90,09
5		1228,76	131,70	9,33
6		50,00	79,37	0,63

Установлено, что исследуемые вещества обладают низкой токсичностью в отношении культур клеток рабдомиосаркомы человека.

Как видно из таблицы, три синтезированных соединения (1, 2, 3) обладают выраженной способностью подавлять размножение вируса простого герпеса первого типа в культуре клеток. Метилирование аминогруппы у производных 2-амино-4,6-ди-трет-бутилфенола (соединения 2, 6 в отличие от 1, 5) приводит к неактивным в отношении вируса простого герпеса первого типа образцам, что указывает на важную роль гидроксильной группы в механизме противовирусного действия.

Полученные экспериментальные результаты позволяют считать N-ацильные производные 2-амино-4,6-ди-трет-бутилфенола новой группой ненуклеозидных ингибиторов размножения вируса простого герпеса.

Для дальнейших исследований перспективным является N-(3,5-ди-трет-бутил-2-гидроксифенил)ацетамид (1) как наиболее простой в получении и обладающий высокой противогерпетической активностью.

Литература:

1. Николаева, С.Н. Штаммы вирусов, обладающие лекарственной устойчивостью / С.Н. Николаева, Н.И. Павлова, Е.И. Бореко // Современные проблемы инфекционной патологии человека (эпидемиол., клиника, микробиол., вирусол. и иммунол.): статьи и тезисы I итоговой научно-практической конференции, Минск, 8-9 апреля 1998 г. / БелНИИЭМ, гл. ред. Л.П. Титов. – Минск, 1998. – С. 581.

ПРОТИВОГЕРПЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ N-(3,5-ДИ-ТРЕТ-БУТИЛ-2-ГИДРОКСИФЕНИЛ)АЦЕТАМИДА В ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Бореко Е.И.¹, Шадыро О.И.², Фроленков К.А.³

¹НИИ эпидемиологии микробиологии, Минск, Беларусь

²Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

³РУП «Белмедпрепараты», Минск, Беларусь

Установление выраженной противогерпетической активности N-(3,5-ди-трет-бутил-2-гидроксифенил)ацетамида в опытах на клеточных культурах послужило основанием для изучения антигерпетического эффекта данного соединения в экспериментах *in vivo*.

Опыты проведены на беспородных белых мышах самцах массой 20–25 г. Образцы мазей N-(3,5-ди-трет-бутил-2-гидроксифенил)ацетамида готовили на вазелине. В качестве препаратов сравнения использовали мази ацикловира (2,5 %) и бутаминофена (1 %). Для моделирования герпетического поражения кожи использовали вирус герпеса простого I типа (ВГП, штамм 1 С). Экспериментальный кожный герпес воспроизводили по методике, описанной в [Boyd M.R. et al. 1988], с некоторыми модификациями. Под эфирным наркозом внутреннюю поверхность правой ушной раковины мышей скарифицировали инъекционной иглой, затем на место скарификации наносили 20 мкл вирусосодержащей жидкости (среда DMEM с 10 % сыворотки эмбрионов крупного рогатого скота). Реакцию кожи на заражение герпесом учитывали 4-х ступенчатой шкале. Оценки эритемы и наличия везикул суммировали. Для каждой группы животных вычисляли средний балл.

Установлено, что на следующий день после инфицирования вирусом герпеса у всех животных, включая контрольных, подвергнутых скарификации без заражения вирусом, появлялась достаточно выраженная гиперемия правой ушной раковины. В контрольной группе без заражения гиперемия быстро регрессировала, составляла на 3-й день после инфицирования в среднем 0,3 балла и исчезала не позднее 7-го дня. У животных, подвергнутых инфицированию, напротив, к 3 дню гиперемия резко усиливалась, на ее фоне появлялись высыпания в виде мелких пузырьков, наполненных содержимым, вначале прозрачным, позднее мутнеющим. Затем пузырьки вскрывались с образованием язв и корочек, сливающихся в отдельных случаях в достаточно крупные ранки и струпья. Характерным для инфицирования являлось образование сквозных перфораций уха округлой формы и несращение порезов, нанесенных при скарификации, чего не наблюдалось у животных контрольной группы без инфицирования. Инфекция кожи ушной раковины у мышей, вызванная штаммом вируса простого герпеса, была скоротечной. Пик ее проявлений приходился на 3–4 день после инфицирования, средний балл в этот период достигал от 1,1 до 2,4 баллов в разных экспериментах. Полное исчезновение внешних признаков заболевания наступало в основном на 11–12-й день. Местное лечение мазями N-(3,5-ди-трет-бутил-2-гидроксифенил)-ацетамида, бутаминофена и ацикловира (препаратов сравнения) начинали на следующий день после заражения герпесом и проводили в течение 5 дней. Мази наносились 3 раза в день. Об эффективности мазей судили по выраженности и динамике признаков герпетического поражения кожи у леченных животных в сравнении с эффектом мазевой основы (плацебо). Проявления герпеса оценивали по указанной выше шкале. Как показали проведенные исследования, у зараженных герпесом животных всех групп, включая леченных мазями, в течение 2–4 дней после инфицирования отмечалось нарастание клинических проявлений местного поражения кожи. Однако, в контрольной группе пик реакции достигался на 4-е сутки, а в подопытных группах – в основном на 3-й день. В дальнейшем выраженность поражений ослабевала. В контрольной группе, где лечение проводили мазевой основой, выраженность признаков инфекции достигала 1,22 баллов к 4 дню, снижалась примерно вдвое на 5-й день и затем постепенно спадала до 0,27 баллов к моменту завершению периода наблюдений (10-й день).

Установлено, что экспериментальный образец 1% мази N-(3,5-ди-трет-бутил-2-гидроксифенил)ацетамида был более эффективен по подавлению герпетических поражений кожи в течение всего их цикла развития по сравнению с 1 % мазью бутаминофена и сравним с ацикловиром. Максимальная выраженность поражения отмечалась на 4-й день лечения 1 % мазью N-(3,5-ди-трет-бутил-2-гидроксифенил)ацетамида и составила

0,39 баллов, т.е. меньше, чем у животных, леченных мазями бутаминафена и даже ацикловиrom.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности дальнейшего изучения N-(3,5-ди-трет-бутил-2-гидроксифенил)ацетамида в лекарственных формах в качестве противогерпетического средства.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И ЕГО ПОСЛЕДСТВИЯ ПРИ СОВМЕСТНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНОВ УРАНИЛА И ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Брусков В.И., Иванов В.Е., Карп О.Э., Попова Н.Р., Усачева А.М., Черников А.В., Шелковская О.В., Гудков С.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, Пущино, Московской обл., Российская Федерация

Загрязнение окружающей среды окислами урана при добыче природного урана, его обогащении для ядерной энергетики и военных целей показывает их высокое токсическое действие на окружающую среду и человека [1,2]. При использовании бронебойных снарядов с обедненным ураном наблюдаются массовые заболевания среди военнослужащих и населения, в том числе лейкемии и других онкологических заболеваний [1]. Причины такого действия окислов урана в малых концентрациях на организм человека до сих пор остаются неизвестными. При взрывах таких снарядов происходит сгорание урана с образованием окислов, среди которых растворимой формой является ион уранила (UO_2^{2+}). Ионы уранила с водой, пищей, а также в виде аэрозолей в воздухе могут поступать в живые организмы, включая человека.

В нашей работе установлено, что под действием микромолярных концентраций уранила наблюдается преобладание химической токсичности, обусловленной сильной окисляющей способностью этих ионов. Вклад радиоактивности атомов урана в процесс образования АФК незначителен. Показано, что под действием уранила происходит образование активных форм кислорода (АФК) - гидроксильных радикалов и перекиси водорода в воде. Установлен синергетический эффект генерации АФК при совместном воздействии уранила и физических факторов среды – тепла, видимого света и ионизирующего излучения. В присутствии уранила в уранилнитрате при концентрациях 1–100 мкМ в водных растворах происходят значительные изменения образования перекиси водорода и гидроксильных радикалов под влиянием этих факторов. Способность

ионов уранила к индукции образования АФК зависит от концентрации уранила, интенсивности воздействия физических факторов, наличия в среде соединений восстановительной природы и концентрации растворенного кислорода. Показано, что в присутствии уранила в растворе ДНК происходит образование 8-оксогуанина – ключевого биомаркера окислительных повреждений, обладающего отдаленными генотоксическими последствиями. С помощью микроядерного теста установлено, что ионы уранила вызывают окислительный стресс у мышей и приводят к повреждению ДНК в полихроматофильных эритроцитах их костного мозга. Обнаружено влияние ионов уранила на образование долгоживущих радикалов белков, способных к длительной генерации АФК, и на окислительные повреждения белков сыворотки крови (образование карбонильных производных). Ранее нами показано, что под воздействием рентгеновского облучения возникают окисленные долгоживущие активные формы белков, которые продляют действие окислительного стресса после облучения и вызывают генотоксические повреждения в организме мышей [3].

Установлено, что ионы уранила обладают мощным радиосенсибилизирующим воздействием и значительно увеличивают смертность мышей при действии сублетальных доз рентгеновского излучения. Таким образом, ионы уранила в микромолярных концентрациях совместно с тепловым воздействием и влиянием других физических факторов среды вызывают окислительный стресс в организме мышей. Можно полагать, что молекулярным механизмом супертоксического действия ионов уранила в низких концентрациях при попадании их в организмы, в том числе и человека, является генерация АФК приводящая к окислительному стрессу.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований грант № 14-44-03562-р_центр_а.

Литература:

1. С.В. Гудков, А.В. Черников, В.И. Брусков. Химическая и радиационная токсичность соединений урана. // Российский химический журнал (Ж.Рос.хим.об-ва им Д.И.Менделеева). Т.58. С. 73-82. (2014).
2. Garmash S.A., Smirnova V.S., Karp O.E., Usacheva A.M., Berezhnov A.V., Ivanov V.E., Chernikov A.V., Bruskov V.I., Gudkov S.V. Pro-oxidative, genotoxic and cytotoxic properties of uranyl ions. // J. Environ. Radioact. V. 127. P. 163-170. (2014).
3. V.I. Bruskov, O.E. Karp, S.A. Garmash, I.N. Shtarkman, A.V. Chernikov, S.V. Gudkov. Prolongation of oxidative stress by long-lived reactive protein species induced by X-radiation and their genotoxic action. // Free Radical Res. V. 46, P. 1280-1290. (2012).

АЗОТИСТЫЕ ОСНОВАНИЯ ХОНДРИЛЛЫ СИТНИКОВИДНОЙ (*CHONDRILLA JUNCEA L.*)

Бубенчикова В.Н., Левченко В.Н.

ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет Минздрава России», кафедра фармакогнозии и ботаники, Курск, Россия

This article analyzes the nitrogenous bases – a widespread class of biologically active natural compounds. For the analysis of the plant family Asteraceae selected – *Chondrilla juncea*, widespread in Central Russia. The study of qualitative composition and quantitative content of nitrogenous bases. The experimental results show promising study *Chondrilla juncea* nitrogenous bases and the determination of their pharmacological activity.

Хондрилла ситниковидная (*Chondrilla juncea L.*) – многолетнее травянистое растение семейства Астровые (*Asteraceae*), широко распространенное в областях Средней полосы России. Произрастает хондрилла на песчаных почвах, на пустырях, опушках, обочинах дорог, залежах. Отвар корней и листьев в народной медицине применяют при укусах змей. В эксперименте экстракт, полученный из травы, ингибировал активность ксантиноксидазы, обладал антиоксидантным действием. Однако, химический состав хондриллы ситниковидной изучен недостаточно, до настоящего времени были частично изучены только фенольные соединения и сесквитерпеновые лактоны. В частности не изучены азотистые основания.

Азотистые основания играют важную роль для организма человека. Например холин и бетаин оказывают влияние на условно-рефлекторную деятельность, на процессы возбуждения и торможения. Азотистые основания участвуют в иммунных реакциях организма, восстанавливают его резистентность к туберкулезной инфекции. Холин входит в состав фосфолипидов: лецитина и сфингомиелина, оказывает липотропное действие, являются составной частью лекарственных препаратов, применяемых для лечения и профилактики заболеваний нервной, сердечно-сосудистых систем.

Целью исследования явилось изучение азотистых оснований травы хондриллы ситниковидной.

Объекты и методы исследования. Объектом исследования служила трава хондриллы ситниковидной, заготовленная в Курской области в 2014 году, в период массового цветения растения.

Методы исследования. Для доказательства наличия азотистых оснований в траве хондриллы ситниковидной готовили водные извлечения,

с которыми проводили качественные реакции с 3% раствором кислоты фосфорновольфрамовой; с реактивом Манделина; с раствором кислоты хлористоводородной и бриллиантовым зеленым [3]. Для подтверждения наличия азотистых оснований проводили также хроматографирование водных извлечений на бумаге в системе растворителей: н-бутанол-кислота уксусная-вода (4:1:2). Хроматограммы проявляли парами йода в эксикаторе [1, 3]. Для количественного определения азотистых оснований использовали модифицированную методику Г.А. Луковниковой и А.И. Есютиной. В основу методики положено определение оптической плотности окрашенных комплексов азотистых оснований с солью Рейнеке [3]. Параллельно в тех же условиях измеряли оптическую плотность раствора стандартного образца холина хлорида с солью Рейнеке.

Результаты исследования. Положительные качественные реакции свидетельствуют о наличии в траве хондриллы ситниковидной азотистых оснований. В результате хроматографирования в траве хондриллы ситниковидной обнаружено 7 соединений, имеющих темно-оранжевую окраску отнесенных к азотистым основаниям.

Содержание суммы азотистых оснований в траве хондриллы ситниковидной составляет 0,11%, в том числе содержание холина – 0,05%.

Выводы. Проведенный качественный анализ показал наличие в траве хондриллы ситниковидной азотистых оснований. Установлено количественное содержание холина и суммы азотистых оснований.

Литература:

1. Бубенчиков Р.А., Гончаров Н.Н. Азотистые основания кульбабы шершавоволосистой (*Leontodon hispidus*). Материалы первой международной научной конференции молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» Казахстан. 2013 г. С. 60-62
2. Иллюстрированный определитель растений Средней России. Т. 3. Покрытосеменные (двудольные: раздельнолепестные) / И.А. Губанов, К.В. Киселева, В.С. Новиков, В.Н. Тихомиров. – М., 2004. – 520 с.
3. Муравьева, Д.А. Азотистые основания омелы белой и формианы простой / Д.А. Муравьева, О.И. Попова, К.О. Гаспарян // Фармация. - 1991. - №. - С. 16-17.
4. Флора СССР: в 30 т. – М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1934-1964. – Т. XXIX. – С. 204-206.

ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ КУЛЬБАБЫ ОСЕННЕЙ

Бубенчиков Р.А., Гончаров Н.Н.

ГБОУ ВПО Курский государственный медицинский университет, Курск, Россия

The study of the antioxidant activity of herbs *leontodon autumnalis*. Found that the highest activity of the extracts fall *leontodon autumnalis* when using purified water as the extractant and 30% ethyl alcohol.

Актуальность изучения процессов биологического окисления продолжает расти. За последние полтора десятка лет опубликовано большое количество научных работ, свидетельствующих о наличии связи между патогенезом различных заболеваний и процессами старения организма с перекисным и свободно-радикальным окислением [3]. Таким образом, в последнее время большое внимание уделяется поиску средств, обладающих естественным антиоксидантным действием.

В качестве природных антиоксидантных агентов могут выступать фенольные соединения, широко представленные в растительном мире. Кульбаба осенняя – многолетнее травянистое растение распространенное в Европейской части России.

Целью нашей работы явилось определение антиоксидантной активности водных и водно-спиртовых извлечений полученных из травы кульбабы осенней.

Объектом исследования служила трава кульбабы осенней, заготовленная на территории Курской области в 2014 г. в период массового цветения растения. Водные и водно-спиртовые извлечения из сырья исследуемого вида готовили в соотношении 1:10 по фармакопейной методике: 15 мин. нагревали на кипящей водяной бане, 45 мин. охлаждали [1]. В качестве экстрагентов использовали воду очищенную, спирт этиловый 30%, 50%, 70% и 96%. Антиоксидантную активность определяли титриметрическим методом, основанным на химической реакции между калия перманганатом и биологически активными веществами восстановительного характера, содержащихся в извлечениях из исследуемого растения [2]. В качестве растворов сравнения использовали растворы флавоноидов с установленной антиоксидантной активностью: кверцетина, рутина и цинарозида.

Результаты определения антиоксидантной активности представлены в таблице 1. Исходя из данных, представленных в таблице 1, можно сделать вывод, что антиоксидантной активностью обладают все исследуемые извлечения полученные из травы кульбабы осенней.

Таблица 1 - Антиоксидантная активность водных и водно-спиртовых растворов травы кульбабы осенней

Экстрагент	Антиоксидантная активность мг/г		
	рутин	циннарозид	кверцетин
Вода очищенная	10,75	10,72	6,38
Спирт этиловый 30%	10,43	10,40	6,19
Спирт этиловый 50%	4,92	4,88	2,92
Спирт этиловый 70%	5,90	5,86	3,50
Спирт этиловый 96%	4,58	4,55	2,72

Наибольшая активность извлечений из кульбабы осенней наблюдается при использовании в качестве экстрагента воды очищенной и спирта этилового 30% (таблица 1).

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о том, что трава кульбабы осенней может служить источником соединений с антиоксидантной активностью.

Литература:

1. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. / МЗ СССР, -11-е изд., доп. М.: Медицина 1990. - с. 400.
2. Максимова Т.В., Никулина И.Н., Пахомов В.П. и др. Способы определения антиокислительной активности. Патент № 2170930. Класс(ы) патента: G01N33/50, G01N33/52. Дата публикации: 20.07.2001.
3. Чеснокова Н.П. Источники образования свободных радикалов и их значение в биологических системах в условиях нормы / Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина, М.Н. Бизенкова // Современные наукоемкие технологии. - 2006. - №6. - С. 28 - 34.

АНТИРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ 1,3-ДИОКСОЛАНОВ

Вольева В.Б., Белостоцкая И.С., Комиссарова Н.Л., Малкова А.В.,
Похолок Т.В.

Институт биохимической физики имени Н.М.Эмануэля РАН, Москва, Россия

Циклические кетали (1,3-диоксоланы), образующиеся при конденсации вицинальных диолов (этиленгликоль, глицерин и т.п.) с карбонильными соединениями, обладают антидетонантными свойствами и в составе топливных композиций значительно улучшают октановые характеристики [1].

Действие антидетонантов объясняется их способностью ингибировать развитие радикальных процессов, приводящих к взрывному горению, за счет образования менее активных радикалов при взаимодействии с ведущими радикальные цепи активными радикалами из окисляемых углеводородов топлива. Моделями таких активных частиц могут слу-

жить радикалы, образующиеся при фотолизе пероксидов, а также атомы галогенов, генерируемые из высоковалентных неорганических галогенидов.

Обе модели - с применением FeCl_3 и перекиси бензоила - использованы нами для оценки возможности радикального окисления диоксоланов и исследования спектральных параметров образующихся при этом радикальных частиц. Образование радикалов в кеталах включает образование и последующие реакции активных атомов хлора (из FeCl_3 , [2]) и фенильных радикалов (из перекиси бензоила [3]).

На рисунке 1 приведены спектры радикалов, образующихся при отрыве атома водорода от 2,2-диметил- (I)- и 2,2-диметил-4-гидроксиметил (II) -1,3-диоксоланов (радикалы III, IV соответственно).

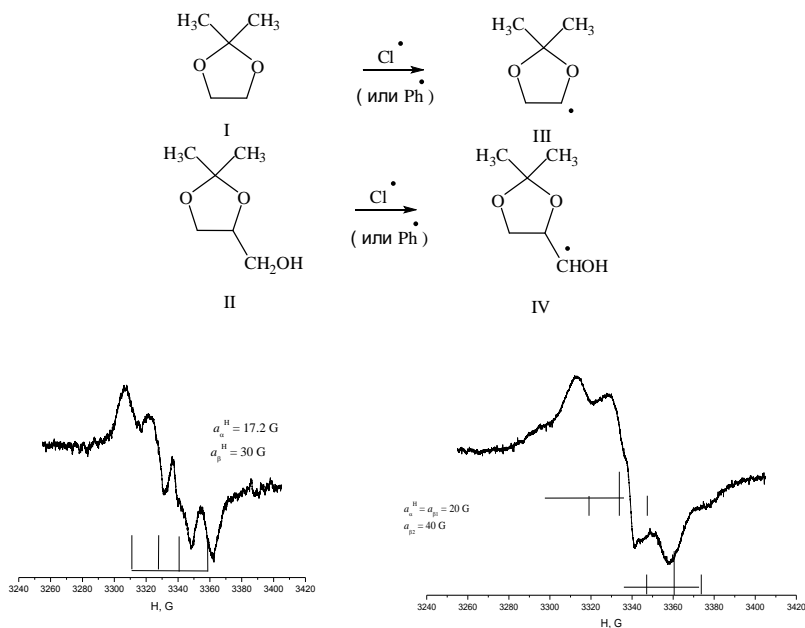


Рисунок 1 – Спектры ЭПР радикалов III и IV

Вид спектров и спектральные параметры не зависят от способа генерирования радикалов и составляют для радикала (III) с FeCl_3 и с перекисью бензоила $a_{\alpha}^{\text{H}} = 17.2 \text{ Гс}$, $a_{\beta}^{\text{H}} = 30 \text{ Гс}$, для радикала (IV)

$a_{\alpha}^H = a_{\beta 1} = 20$ Гс, $a_{\beta 2}^H = 40$ Гс, что согласуется с литературными данными [4] и позволяет соотнести наблюдаемые спектры с радикалами (III, IV). Спектр радикала (III) представляет собой дублет триплетов, а радикала (IV) – дублет дублетов. Спектральные параметры сохраняются с повышением температуры регистрации вплоть до исчезновения радикалов при плавлении кеталей (> 180 К).

Образование углерод-центрированных радикалов, достаточно стабильных для наблюдения методом ЭПР, согласуется с антидетонантной активностью исследуемых соединений.

Литература:

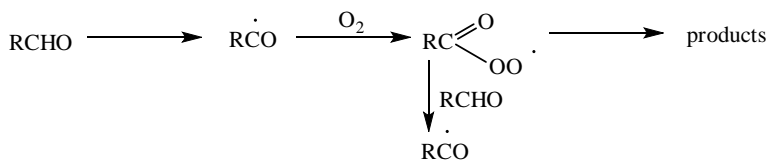
1. Варфоломеев С.Д., Никифоров Г.А., Вольева В.Б., Макаров Г.Г., Трусов Л.И. *Пат* 2365617. (2009). *РФ. Б.И.* 2009, № 24.
2. Pokholok T.V., Zaitseva N.I., Pariysky G.B., D.Ya. Toptygin. *Polymer Photochem.*, 1982, 2, 429.
3. Парийский Г.Б., Топтыгин Д.Я., Давыдов Е.Я., Леднева О.А., Михеев Ю.А., Карасев В.М., Высокомол.соед., 1972. Б, 14, 511.
4. Пшежецкий С.Я., Котов А.Г., Милинчук В.К., Рогинский В.А., Тупиков В.И. ЭПР свободных радикалов в радиационной химии. М.: Химия, 1972, 52.

АВТОИНГИБИРОВАНИЕ ОКИСЛЕНИЯ 3,5-ДИ-ТРЕТ-БУТИЛСАЛИЦИЛОВОГО АЛЬДЕГИДА В 3,5-ДИ-ТРЕТ-БУТИЛСАЛИЦИЛОВУЮ КИСЛОТУ

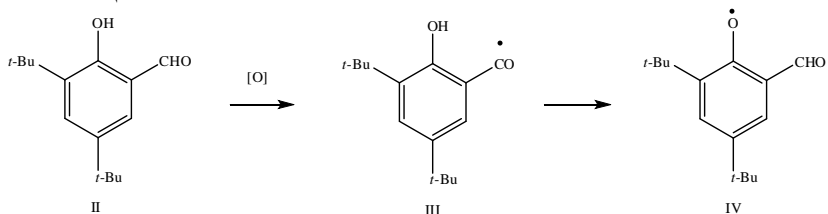
Вольева В.Б., Белостоцкая И.С., Комиссарова Н.Л., Курковская Л.Н.,
Прокофьева Т.И., Овсянникова М.Н.

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия

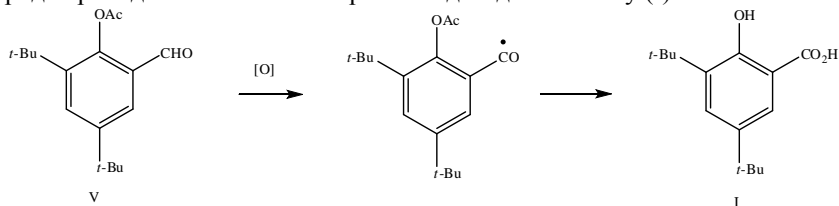
Один из способов получения салициловой кислоты основан на окислении салицилового альдегида. Однако получить 3,5-ди-трет-бутилсалициловую кислоту (I) окислением 3,5-ди-трет-бутилсалицилового альдегида (II) не удастся. Известно [1], что альдегиды в жидкой фазе подвергаются автоокислению, радикально-цепной механизм которого включает на стадии зарождения цепи образование ацильного радикала в результате отрыва атома водорода от формильной группы. Последующее присоединение O_2 к ацильному радикалу дает ацилперокси-радикал, продолжающий цепь окисления и приводящий к продуктам реакции.



Устойчивость альдегида (II) к окислению можно объяснить автоингибированием радикального процесса за счет внутримолекулярного переноса атома водорода с превращением активного ацильного радикала (III) в ароксильный радикал (IV), не способный к продолжению радикальной цепи.



Для реализации окисления формильной группы в карбоксильную необходимо блокировать группу OH альдегида (II). Для этой цели использована ацетильная защита, устойчивая к окислению и достаточно легко снимаемая гидролитически. Термолиз ацилированного альдегида (V) в расплаве в присутствии NaOAc при доступе атмосферного кислорода приводит к полной конверсии альдегида в кислоту (I).



Снятие защитной ацетильной группы происходит в процессе автоокисления альдегида (III) спонтанно. Применение микроволнового нагрева позволяет сократить время процесса до 10-15 мин.

Литература:

- Белостоцкая И.С., Комиссарова Н.Л., Прокофьева Т.И., Курковская Л.Н., Вольева В.Б. ЖОрх 2005, 4, 718

СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ДЕФИЦИТА ЦИНКА *IN VITRO*

Гармаза Ю.М., Зубрицкая Г.П., Кутько А.Г., Канаш Ю.С.,
Слобожанина Е.И.

ГНУ “Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси”,
Минск, Беларусь

В настоящее время дефицит цинка в организме считается мировой проблемой. По данным ВОЗ около 2 млрд. людей на Земле потребляют недостаточное количество этого микроэлемента и поэтому не удивительно, что почти 10% населения имеют риск развития Zn-дефицитных состояний. Неоспоримая важность цинка в функционировании клеток свидетельствует о том, что широкое распространение его дефицита имеет связь с повышенным риском развития хронических заболеваний. Наиболее очевидной взаимосвязью между дефицитом цинка и развитием патологий считается именно функция Zn^{2+} как антиоксиданта. Существует достаточно доказательств того, что недостаток цинка в организме человека сопровождается неконтролируемой генерацией активных форм кислорода, которая индуцирует повреждение белков, липидов и ДНК. Повреждение ДНК, в свою очередь, может приводить к мутациям и это объясняет эпидемиологическую связь между недостатком цинка и хроническими заболеваниями, в том числе и злокачественными новообразованиями. Однако до сих пор первоначальный источник окислительного стресса при дефиците цинка остается неизвестным. Существует предположение, что статус цинка в клетках крови человека напрямую определяется активностью ключевых антиоксидантных ферментов. Цель работы - оценить состояние антиоксидантной системы эритроцитов человека в условиях дефицита цинка *in vitro*.

Для моделирования состояния дефицита цинка *in vitro* в эритроцитах человека проводилась 30-минутная экспозиция клеток с внутриклеточным хелатором N',N'-тетраakis-(2-пиридил-метил)-этилендиамином (ТРЕН) и внеклеточным хелатором - диэтилентридиаминпентауксусной кислотой (ДТРА) в субгемолитических концентрациях 10–100 мкМ. Оценка изменения цитозольной концентрации лабильных ионов цинка в эритроцитах человека с помощью флуоресцентного зонда FluoZin-3-AM после инкубации клеток с хелаторами выявила статистически достоверное дозозависимое снижение внутриклеточного пула Zn^{2+} в среднем на 10–50%.

Проведен сравнительный анализ состояния антиоксидантной системы защиты эритроцитов в условиях моделирования условий дефицита цинка. Известно, что наиболее важным элементом системы глутатиона является фермент глутатионпероксидаза (ГП), которому принадлежит основная роль в утилизации липидных гидроперекисей и пероксида водорода. Нами установлено статистически значимое снижение активности ГП, как при внутриклеточном хелатировании Zn^{2+} (до 60% по сравнению с интактными клетками), так и при использовании мембранопроницаемого хелатора ДТРА (до 70–75%). При этом, активность каталазы – функция, которой также заключается в утилизации пероксида водорода, была снижена, как при действии ТРЕН, так и при действии ДТРА, но в меньшей степени. Максимальный эффект ингибирования (до 35%) наблюдался при воздействии на эритроциты хелаторов обоих типов в концентрации 25 мкМ. Как известно, это можно объяснить тем, что в эритроцитах при высокой скорости образования пероксида водорода (10^{10} – 10^9 моль H_2O_2 на 1 мг гемоглобина в 1 мин) преобладает активность ГП, а при низкой скорости образования H_2O_2 (10^9 – 10^7) – защитное действие оказывает в основном каталаза.

В то же время при хелатировании Zn^{2+} в эритроцитах было обнаружено разнонаправленное изменение уровня восстановленного глутатиона (GSH) – главного низкомолекулярного антиоксиданта. Если воздействие ТРЕН в концентрациях 10 и 25 мкМ приводило к незначительному снижению GSH, то инкубация клеток с 50 и 100 мкМ ТРЕН – к статистически значимому увеличению уровня GSH в среднем на 10%. Инкубация же эритроцитов с внеклеточным хелатором цинка ДТРА в концентрациях 10, 50 и 100 мкМ не вызывала изменений уровня GSH, но воздействие ДТРА в концентрации 25 мкМ на эритроциты увеличивало концентрацию GSH в клетках на 10–15%. Объяснением этого факта может явиться механизм действия ДТРА, а именно, рецепторный запуск высвобождения ионов цинка из депо клетки из-за их хелатирования на поверхности мембраны.

Полученные данные подтверждают гипотезу, что одним из возможных механизмов развития окислительного стресса в условиях дефицита цинка в организме может являться ингибирование активности основных ферментов антиоксидантной защиты клеток.

Работа выполнена в рамках гранта БРФФИ Б14М–066.

ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И ОСТАТКОВ ЦИСТЕИНА В БЕЛКОВО-ЛИПИДНОЙ И БЕЛКОВО-АМИНОКИСЛОТНОЙ КОРМОВЫХ ДОБАВКАХ

Гармаза Ю.М.¹, Рудая Е.В.², Кутько А.Г.¹, Канаш Ю.С.¹, Костин Д.Г.¹,
Тамашевский А.В.¹, Фролова Н.С.², Хорушкин В.В.³, Шкуматов В.М.²,
Слобожанина Е.И.¹

¹ГНУ “Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси”,
Минск, Беларусь

²“Научно-исследовательский институт физико-химических проблем” БГУ,
Минск, Беларусь

³ООО «Центр Инновационных Технологий», Беларусь

Доступность сбалансированных по аминокислотному составу белковых продуктов кормового назначения является одним из основных факторов, сдерживающим увеличение продуктивности животных, улучшение качества и рентабельности конечной продукции. Несмотря на введение в хозяйственный оборот различных кормовых белковых продуктов растительного, животного и микробного происхождения, проблема получения полноценных, не дефицитных по отдельным аминокислотам, полностью усвояемых, гипоаллергенных продуктов из доступного сырья остается актуальной. В настоящее время к перспективным кормовым добавкам с заданным химическим составом относят белково-аминокислотные и липидно-белковые смеси дрожжевого происхождения с добавлением различных биологически активных веществ. Наличие разнообразных функциональных групп в таких продуктах, а также необходимость проведения продолжительных технологических операций в водной среде в присутствии кислорода может сопровождаться рядом окислительных процессов с образованием реакционно-активных радикалов. Следствием этих процессов является повышенная агрегация биополимеров, неконтролируемая химическая модификация аминокислотных остатков, компонентов нуклеиновых кислот, липидов, что в конечном итоге может сопровождаться изменением физико-химических и органолептических свойств конечных продуктов. В связи с этим целью настоящей работы явилось получение некоторых физико-химических параметров при различных условиях хранения для белково-липидных эмульсий БЛЭ1 (добавка соапстока подсолнечного масла), и БЛЭ2 (добавка соапстока рапсового масла), а также пептидно-аминокислотных добавок (ПАД1 и ПАД 2), предназначенных для использования в качестве энергетических добавок в корм животным. БЛЭ1 и БЛЭ2 представляют собой водные суспензии, полученные в ходе смешивания гидролизата дрожжей

и липидосодержащей фракции, а ПАД1 и ПАД2 – жидкости без разделения клеточных стенок и дрожжевого экстракта, полученные методом автолиза с хлороформом и гидролизом ферментами поджелудочной железы крупного рогатого скота и субтилопептидазой А с последующей консервацией и пастеризацией.

Нами проведены лабораторные испытания полученных дрожжевых экстрактов: 1) микроскопическая оценка полученных образцов с целью визуального определения наличия в них живых клеток; 2) оценка общего белка по методу Лоури; 3) оценка уровня незаменимой аминокислоты триптофана флуоресцентным методом; 4) оценка общего содержания холестерина ферментативным методом. Далее было изучено влияние различных температурных условий хранения исследуемых дрожжевых экстрактов ($4\pm 2^\circ\text{C}$, $20\pm 2^\circ\text{C}$, 30°C) на процессы окисления липидов (уровень ТБК-продуктов) и белков (степень окисленности их сульфгидрильных (SH-) групп). Установлено, что концентрация ТБК-продуктов в образцах БЛЭ1 и БЛЭ2 при 30°C увеличивается в среднем на 30–40% по сравнению с инкубацией их при $4\pm 2^\circ\text{C}$, и $20\pm 2^\circ\text{C}$, в то время как в ПАД1 и ПАД2 – в среднем на 5–15%, что является следствием обогащения первых образцов липидной составляющей. Оценка уровня SH-групп была проведена с использованием флуоресцентного зонда N-(1-пирен)-малеимида (ПМ), который, взаимодействует с SH-группами и по интенсивности флуоресценции его продуктов можно судить об их количестве в исследуемых образцах. Установлено, что уровень SH-групп в дрожжевых экстрактах БЛЭ1, БЛЭ2, ПАД1, выдержанных предварительно при $4\pm 2^\circ\text{C}$, $20\pm 2^\circ\text{C}$, 30°C в течение 3 ч практически совпадают, что свидетельствует об отсутствии окисления в них сульфгидрильных групп. Однако, в ПАД2 обнаружено 10%-ое интенсивности флуоресценции ПМ при 30° -выдерживании, что свидетельствует о возможном влиянии повышенных температур на окисление белков при ее хранении. Наличие выраженного процесса перекисного окисления липидов требует введения в состав рецептур получаемых белково-липидных продуктов разрешенных ингибиторов свободно-радикальных процессов. В случае белково-аминокислотных продуктов процесс окисления сульфгидрильных групп в присутствии кислорода носит более продолжительный характер и требует введения допущенных протекторов SH-групп.

РЕДОКС-АКТИВНЫЕ КОМПЛЕКСЫ МЕДИ(II) И ЦИНКА(II) С ОСНОВАНИЯМИ МАННИХА

Горбачевич Г.И.¹, Фалетров Я.В.¹, Логинова Н.В.¹, Ковальчук Т.В.¹,
Петрашевская Т.В.¹, Осипович Н.П.², Ксендзова Г.А.¹, Азарко И.И.¹

¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

²НИИХ Физико-химических проблем, Минск, Беларусь

В последние годы наблюдается стремительное распространение грибковых инфекций. К основным лекарственным средствам для борьбы с ними относятся полиены и азолы [1]. Однако они малоэффективны в отношении многих культур плесневых грибов (*Fusarium spp.*, *Mucor spp.*, *Alternaria spp.* и др.) [2]. С целью решения этой проблемы осуществляется модернизация известных лекарственных средств и разработка новых субстанций, среди которых перспективными являются металлокомплексы с биоактивными органическими лигандами, в частности редокс-активными производными дигидроксibenзола [3].

Нами синтезированы и изучены комплексы Cu(II) и Zn(II) с 2-тетрагидро-1Н-1-пирролилметил-4,6-ди-*трет*-бутил-1,3-дигидроксibenзолом (HL^I), 2-пиперидинометил-4,6-ди-*трет*-бутил-1,3-дигидроксibenзолом (HL^{II}), 2-(1-азепанилметил)-4,6-ди-*трет*-бутил-1,3-дигидроксibenзолом (HL^{III}), 2-морфолинометил-4,6-ди-*трет*-бутил-1,3-дигидроксibenзолом (HL^{IV}), 2-(4-метилпиперазинометил)-4,6-ди-*трет*-бутил-1,3-дигидроксibenзолом (HL^V). Методом потенциометрии установлено, что в водно-этанольной среде образуются комплексы Cu(II) и Zn(II) с мольным отношением M(II):лиганд=1:2 и общими константами устойчивости $\beta_2 = 1 \cdot 10^{14} \div 9 \cdot 10^{19}$. По результатам элементного анализа, кондуктометрии, термогравиметрии, а также ИК-, УФ- и ЭПР-спектроскопии определены состав и структура их координационных узлов (плоскоквадратный [CuN₂O₂] и искаженный тетраэдрический [ZnN₂O₂]). Методом ЭПР показано, что в исследованных металлокомплексах отсутствует примесь феноксильных радикалов. Определено, что комплексы являются более липофильными ($\log P_{ow} = 1,85-3,47$), по сравнению с соответствующими лигандами ($\log P_{ow} = 0,95-1,25$). Результаты первичного скрининга показали, что соединения HL^I-HL^V обладают низкой антифунгальной активностью ($RI < 60\%$, где RI – степень ингибирования радиального роста мицелия) в отношении тест-культур плесневых грибов *Aspergillus niger*, *Fusarium spp.*, *Mucor spp.*, *Penicillium lividum*, *Sclerotinia sclerotiorum* и *Alternaria alternata*, в то время как комплексы Cu(II) и Zn(II) значительно активнее лигандов ($RI \geq 80\%$). Это различие

может быть обусловлено высокой липофильностью комплексов. Среди синтезированных соединений следует выделить в качестве базовых структур все комплексы Zn(II) ($RI=100\%$), антифунгальная активность которых существенно превышает ингибирующий эффект антибиотиков нистатина и тербинафина.

Ранее нами была установлена корреляция последовательностей величин RI и скорости восстановления цитохрома c в рядах однотипных *o*-дифенольных производных оснований Манниха и их металлокомплексов [4], обусловленная одноэлектронным механизмом восстановления фермента редокс-активными формами этих соединений. Однако для *m*-дифенольных производных оснований Манниха HL^I-HL^V и их комплексов Cu(II) и Zn(II) вышеуказанная зависимость не выявлена, что свидетельствует об ином механизме восстановления фермента. Очень низкие величины скорости восстановления цитохрома c комплексами $Zn(L^{IV})_2$ и $Zn(L^V)_2$ или отсутствие восстановления этого фермента соединениями HL^{II} , HL^{III} , HL^V , $Zn(L^{II})_2$, $Zn(L^{III})_2$ и $Zn(L^{IV})_2$ может быть обусловлено способностью этих соединений, подобно супероксиддисмутазе, взаимодействовать с фенокисильными радикалами, образующимися при их окислении цитохромом c .

Методом генерации супероксид-радикала из щелочного ДМСО [5] определена супероксиддисмутазная активность (IC_{50}) синтезированных комплексов Cu(II) (16,3 – 36,2 мкмоль/см³). Показано, что в условиях эксперимента соединения HL^I-HL^V и их комплексы Zn(II) не обладают активностью.

Литература:

1. Abu-Salah K. M. // British J. Biomed. Sci. – 1996. – Vol. 53. – P.122.
2. Singh N. // Clin. Infect. Dis. – 2001. – Vol. 33. – P.1692.
3. Loginova N.V. et al. In: Pharmacologically active benzene derivatives: Synthesis, complexation with biometals, and biological evaluation of sterically hindered 1,2-dihydroxybenzene and *o*-aminophenol derivatives; Nova Science Publisher's, Hauppauge. New York. – 2012. P. 32–79.
4. Loginova N.V. et al. In: Cytochromes b and c: Biochemical Properties, Biological Functions and Electrochemical Analysis; Nova Science Publisher's, Hauppauge. New York. – 2013. – P. 125.
5. Hyland K. // Anal. Biochem. Vol. 135. – 1983. – P. 280-287.

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ МОЛДОВЫ НА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ РЫНКЕ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Гореньков В.Ф., Гореньков С.В., Круглей Н.С.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Лекарственное обеспечение – важнейшее слагаемое оказания высококвалифицированной медицинской помощи населению. Фармацевтический рынок является составной частью фармации, которая изучает особенности и законы его функционирования. Как любая функционирующая система фармацевтический рынок представляет собой комплекс различных организаций, взаимодействующих между собой в целях получения прибыли от реализации потребителям специфических товаров и услуг.

Фармацевтический рынок РБ имеет ряд специфических особенностей:

- значительное расширение ассортимента лекарственных средств (ЛС) за счет поступления новых от различных, в том числе ранее неизвестных, производителей и поставщиков;
- медленная оборачиваемость в сравнении с другими товарами;
- высокая доля импортных ЛС;
- неравномерный спрос различных ЛС в зависимости от сезонности и заболеваемости населения;
- длительность процесса освоения и организации собственного производства и др.

Внедрение рыночных механизмов в фармацевтическом секторе, развитие систем аптечных учреждений негосударственной формы собственности способствовали насыщению отечественного фармацевтического рынка ЛС зарубежных производителей.

Объем фармацевтического рынка традиционно рассчитывается по формуле: **собственное производство ЛС + импорт – экспорт**. Эта формула описывает совокупное поступление ЛС на рынок страны.

По утверждению министра здравоохранения РБ В.И.Жарко, 28 отечественных предприятий фармацевтического комплекса в настоящее время производят более 1300 наименований ЛС. Отечественный рынок ЛС ежегодно увеличивается. В 2014 г. его оборот составил 850 млн.долларов США. Средний процент обращения отечественных ЛС на рынке составил 37,6%, в январе 2015 г. -39% («Медицинский вестник», №12 от 19.03.2015 г.). В стационарах областных и республиканских центров более 50 % ЛС отечественных производителей. Это свидетельствует о все еще значительном количестве ввозимых в страну импортных ЛС.

Одной из стран доноров, поставляющих в РБ ЛС является Республика Молдова, данные анализа которых за последние три года нами и представлены в настоящей публикации.

Таблица 1 - Поставки ЛС производителей Молдовы в Республику Беларусь

№ п/п	Производитель	Данные по годам					
		2011		2012		2013	
		тыс. уп.	млн. руб.	тыс. уп.	млн. руб.	тыс. уп.	млн. руб.
1.	ООО «Депофарм»,	435,4	2780,0	513,3	4 016	499,0	6006
2.	Farmaprim SRL	855,7	4857,4	1193	11909	1098,0	12380
3.	ООО«Флумед Фарм»	362,2	2346,0	3820	1295	-	-
4.	SC NEW TONE SRL	50,1	173,0	-	-	-	-
5.	ООО «Фармаприм»	3,7	112,6	-	-	-	-
Итого		1707,1	10270	5526,3	17220	1697,0	18386

По данным мониторинга фармацевтического рынка нами установлено, что в Республике Беларусь в течение 2011-2012 гг. на фармацевтическом рынке обращались ПЛ пяти производителей Республики Молдовы, в 2013 г. только двух (табл.1). В связи с изменением экономико-политической ситуации в стране объемы поставок в Республику Беларусь ЛС молдавских производителей в натуральном выражении в последние годы значительно сократились. Рост объемов поставок в стоимостном выражении обусловлен ценовым фактором. В целом за анализируемый период молдавскими производителями в РБ было поставлено в 2011 г. 1707,1 тыс. уп. на сумму 10270 млн.руб., в 2012 соответственно 5526,3 и 17220, в 2013 г. 1697 тыс. уп. и 18368 млн.руб. Всего на белорусском фармацевтическом рынке обращается около 70 наименований ЛС производителей Молдовы.

Структура готовых ЛС молдавских производителей по лекарственным формам характеризуется следующими данными: суппозитории – 49,33%; спреи – 21,22%; драже – 10,19%; порошки – 5,05%; измельченное расфасованное лекарственное растительное сырье – 4,47%; растворы – 3,33%; таблетки – 2,14%; капли ушные – 1,16%; настойки – 0,94%; капсулы – 0,78%; кремы и мази – 0,6%; гели и линименты – 0,42%; масла – 0,4%.

К 10–ТОП молдавских ЛС можно отнести: сердечную настойку, свечи ректальные бисакодила, папаверина, метилурацила, диклофенака, индометацина, масло облепиховое, свечи вагинальные клотримазола, ингалипт-спрей и каметона-спрей.

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ ПОЛЬШИ НА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ РЫНКЕ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Гореньков В.Ф., Нгуен В.Т., Шумейко Ю.М.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Исследования последних 10-15 лет позволяют отметить качественные изменения фармацевтического рынка лекарственных средств (ЛС) в Республике Беларусь (РБ).

Рынок ЛС РБ, как и любой другой, формируется с учетом объема ЛС отечественного производства, ввоза зарубежных и экспорта отечественных ЛС. Большинство потребностей в ЛС аптечная сеть страны обеспечивает за счет закупок у производителей стран дальнего и ближнего зарубежья. Среди отечественных производителей основными поставщиками ЛС являются предприятия государственной формы собственности Департамента фармацевтической промышленности Министерства здравоохранения РБ и негосударственных форм собственности. Фармацевтические производства всех форм собственности систематически расширяют номенклатуру и увеличивают объем поставок ЛС на внутренний рынок, но вместе с тем ежегодно увеличивается и объем их экспорта. Дальнейшее развитие фармацевтического рынка страны зависит от улучшения ее материально-технической базы, создания отечественных субстанций, совершенствования подготовки профессиональных кадров для отечественной промышленности.

Основную роль в лекарственном обеспечении населения страны играют импортные ЛС, среди которых значительный удельный вес занимают ЛС производителей Польши. В течение 2011-2013 гг. на белорусском фармацевтическом рынке обращались 235 наименований ЛС 25 производителей Польши. Всего в анализируемый период в РБ поставлено 200129790 уп. польских ЛС, из них в 2011 6499520, в 2012 - 6943039, в 2013 - 8275643. В стоимостном выражении поставленные в РБ ЛС производителей Польши оцениваются в сумме 490.461 млн.руб., в том числе в 2011 - 94.780, в 2012 - 167.560, в 2013 в сумме 228.121 млн.руб. По объему поставок польских ЛС в натуральном выражении к 10-ТОП производителей можно отнести предприятия, представленные в таблице: Phrmaceutical Works POLPHARMA, Medana Pharma S.A., Natur product Pharma Sp. z o.o., Warsaw Phrmaceutical Works Polfa S. A., Gedeon Richter Co Ltd., Phrmaceutical Works Jelfa S.A., ICN Polfa Rzeszow S.A. , Pliva Krakow Phrmaceutical Compani S.A., Biofarm Sp. z. o.o., Tarchomin Phrmaceutical Works Polfa Phrmaceutical Works.

Таблица – 10-ТОП производителей Польши, ЛС которых обращаются на фармацевтическом рынке РБ

Наименование производителя (число наименований ЛС)	Всего поставлено упаковок	В том числе по годам		
		2011	2012	2013
Phrmaceutical Works POLPHARMA (53)	5679740	2055834	1502905	2121001
Medana Pharma S.A. (18)	3642184	957285	1079609	1605290
Natur product Pharma Sp. z o.o. (11)	2170562	518040	808498	844024
Warsaw Phrmaceutical Works Polfa S.A. (19)	1871475	362602	542492	966381
Gedeon Richter Co Ltd. (7)	1390013	389999	598332	401682
Phrmaceutical Works Jelfa S.A. (14)	948732	365561	259433	323738
ICN Polfa Rzeszow S.A. (10)	890810	358105	322622	210083
Pliva Krakow Phrmaceutical Compani S.A. (9)	679388	212849	334123	132416
Biofarm Sp. z. o.o. (11)	661076	165871	129659	365546
Tarchomin Phrmaceutical Works Polfa Phrmaceutical Works (16), т.д.	521803	106139	234081	181583
Итого по 35 предприятиям (235)	20012979	6499520	6943039	8275643
Стоимость поставленных ЛС, млн.руб.	490461,0	94780,0	167560,0	228121,0

ЛС этих предприятий включают 71,5% наименований, составляют 85% общего объема поставок лекарств производителей Польши, поступивших в натуральном выражении на фармацевтический рынок РБ в анализируемый период. Объемы поставок в РБ польских ЛС в натуральном выражении имеют тенденцию к увеличению. Наиболее востребованы на территории РБ следующие ЛС польских производителей: таблетки индапена, полокарда, тинидазола, трихопола, ципронекса и энаренала (Phrmaceutical Works POLPHARMA), капли внутреннего применения аквадетрим, баботика, сироп гелисал, суспензия ибуфена, гель ультрафастина (Medana Pharma S.A.), таблетки нифуроксозида –Рихтера (Gedeon Richter Co Ltd.), хальсета (Biofarm Sp. z.o.o.), порошки антигипипина, мультипродукт для мужчин и для женщин (Natur product Pharma Sp. z.o.o.), капли в нос галазолина, таблетки диласидома (Warsaw Phrmaceutical Works Polfa S.A.), мази лориндена А и С, флуцинар (Phrmaceutical Works Jelfa S.A.), таблетки гиналгина, хлорхинальдина, драже норматенса (ICN Polfa Rzeszow S.A.), таблетки гастала (Pliva Krakow Phrmaceutical Compani S.A.), сироп баладекса, зубной калгель (Aflofarm Fabrika Lekow Sp.z.o.o.), крем клотримазол (GlaxosmithKline Phrmaceuticals S.A.).

Мониторинг рынка импортных ЛС на фармацевтическом рынке будет продолжен, так как его результаты дают ценную информацию по формированию государственной программы производства отечественных ЛС в рамках организации производства импортозамещения необходимых для здравоохранения дженериков, высокоэффективных и доступных по цене для всех слоев населения.

ЭВОЛЮЦИЯ СТРАТЕГИЧЕСКОГО УПРАВЛЕНИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИМ БИЗНЕСОМ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Гореньков В.Ф., Телегина Т.В., Гореньков С.В.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Стратегическое управление - сравнительно новый принцип управления фармацевтической деятельностью, имеющий огромное значение для успешного ведения бизнеса. В переходный период из XX в XXI в. развития фармацевтического бизнеса ему были присущи следующие виды управления: бюджетный, долгосрочное и стратегическое планирование, стратегическое управление.

- Бюджетный (финансовый) контроль как система управления фармацевтическими организациями и предприятиями был основан на предположении о неизменности основных условий конкуренции на фармацевтическом рынке. С этих позиций компании вносят коррективы в размер капиталовложений, производства и сбыта продукции по мере возникновения отклонений между фактическими и запланированными результатами деятельности

- В основе долгосрочного планирования лежит возможность прогнозирования новых рыночных тенденций на базе экстраполяции прошлых. По мнению сторонников этой тенденции в будущем, вероятно, ситуация изменится, но характер этих изменений можно уловить лишь на основе анализа изменений в прошлом.

- Стратегическое планирование не рассматривает будущих изменений в контексте будущего бизнеса и его результатов. Напротив, эта концепция предполагает изменение исходного принципа планирования: идти от будущего к настоящему, а не наоборот, от настоящего к будущему.

- Стратегическое управление также основано на принципе от будущего к настоящему. Однако важнейшим отличительным элементом этой концепции является акцентирование внимания на поиске возможностей влиять на рыночные изменения в выгодном для фармацевтической компании направлении. Потребность в стратегическом управлении прямо пропорциональна степени непредсказуемости и неопределенности внешней среды фармацевтической компании. Следовательно, стратегическое управление – комплекс действий, которые предпринимает фармацевтическая компания для достижения своих целей с учетом собственных материальных, трудовых и финансовых ресурсов, а также факторов внешней среды. С распадом СССР наша страна стала постепенно уходить от прежних постулатов в управлении и наряду с другими развивающимися странами посткоммунистического лагеря вступила в эпоху контрактов, тендеров и маркетинга. Проведение реформ было призвано

создать и цивилизованный фармацевтический рынок для обеспечения населения высококачественной фармацевтической помощью. В условиях реформирования фармацевтической деятельностью фокус реформ фармацевтического сектора должен сместиться в сторону интересов пациента, потребителя фармацевтической помощи, основного ассортимента отечественных лекарственных средств (ЛС).

Важнейшими направлениями в реформировании фармацевтической помощи в плане рыночной экономики в нашей стране были:

- разработка национальной лекарственной политики;
- принятие и утверждение Перечня основных ЛС, который являлся основой для проведения закупок на всех уровнях системы медико-фармацевтической помощи и удовлетворение потребностей населения в ЛС;
- лицензирование фармацевтической деятельности и др.

В итоге, сложились те условия и ограничения существования фармацевтического бизнеса, которые являются реальностью настоящего времени. В процессе реформирования и приспособления к новым условиям работы фармацевтической отрасли происходило постепенное внедрение элементов стратегического планирования и управления фармацевтического бизнеса.

Успешность управления фармацевтическим бизнесом обеспечивается следующими элементами. В успешно работающих фирмах существует чувство направления. Менеджеры высшего звена имеют четкое представление: куда, как и почему следует направлять свои усилия к достижению успеха. В стратегически и успешно функционирующих фирмах лидерство и предприимчивость их менеджеров сочетаются со знанием мотивации и поведения потребителей, тенденций развития рынка, возникающих возможностей и рисков. Менеджеры заняты созданием первоклассного плана действий, направленных на достижение хорошей финансовой результативности и конкурентно способной позиции на прибыльность в долгосрочной перспективе. Такие фирмы работают на запланированный результат. Их менеджеры заняты реализацией выбранных стратегий и выполнением работы согласно разработанным и утвержденным планам. Однако возможности спешных фармацевтических компаний не безграничны. Существует ряд ограничений по использованию стратегического управления, которые указывают на то, что и этот тип управления, равно, как и все другие, не универсален для решения тех или иных задач в постоянно изменяющихся производственно-торговых ситуациях на фармацевтическом рынке.

В силу своей сущности стратегическое управление не может дать точной и детальной картины будущего. Оно не может быть сведено к набору рутинных правил, процедур и схем. Требуются огромные усилия и

большие затраты времени и ресурсов для того, чтобы в компании начал осуществляться процесс успешного стратегического управления. Резко усиливаются негативные последствия ошибок стратегического управления. При осуществлении стратегического управления зачастую основной упор делается на стратегическое планирование. Однако этого совершенно недостаточно, так как стратегический план не обеспечивает его обязательного успешного выполнения. Важнейшей составляющей стратегического управления является реализация стратегического плана. Поэтому фармацевтическая компания практически не сможет перейти к стратегическому управлению, если у нее нет предпосылок для возможного выполнения стратегии. Процесс выработки стратегии по праву считается сердцевинной стратегического управления. Определение стратегии – это принятие решения по поводу того, что делать с отдельными бизнесом или товарами, как и в каком направлении развиваться организации, какое место занимать на фармацевтическом рынке и т.п. При определении стратегии руководство фармацевтической компании должно решить три вопроса: какой бизнес прекратить, какой продолжить и в какой бизнес перейти.

Существуют три основных подхода (фактора конкурентного превосходства) при выработке стратегии поведения фармацевтической компании на рынке: лидерство, специализация и концентрация.

Лидерство. Предполагает минимизацию издержек производства и обращения при оказании услуг потребителям. Чтобы добиться наименьших издержек необходимо изыскать все возможные факторы сокращения расходов по себестоимости товаров, т.е. ее снижения.

Специализация. Фармацевтическая компания должны осуществлять выпуск высококачественной продукции, что будет ориентировать потребителя на ее приобретение даже по более высокой цене чем у конкурента на рынке. В успехе компании важную роль будут играть маркетинговые усилия менеджеров, продвигающих товары на фармацевтический рынок.

Концентрация усилий фирмы. Фармацевтические компании досконально выясняет потребности соответствующего сегмента рынка в определенных видах товаров. В этом случае компания может стремиться к снижению издержек, либо проводить политику специализации в представлении товаров и услуг на рынке.

Подводя итоги, можно сделать вывод, что фармацевтическая компания может выбрать любой из предложенных вариантов конкурсного превосходства на рынке, но в своих намерениях должна исходить не из потребностей рынка вообще, а из потребностей вполне определенных или даже конкретных потребителей.

ТРАНСДУКЦИЯ СИГНАЛА В НЕЙТРОФИЛАХ ПРИ ДЕЙСТВИИ ГАЛОГЕНИРОВАННОГО АЛЬБУМИНА

Горудко И.В.¹, Григорьева Д.В.¹, Шамова Е.В.¹, Соколов А.В.^{2,3},
Костевич В.А.^{2,3}, Панасенко О.М.³, Черенкевич С.Н.¹

¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

²ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

³ФГБУН НИИ физико-химической медицины ФМБА России, Москва, Россия

Нейтрофилы принадлежат к числу центральных участников воспаления, обеспечивающих первичную неспецифическую защиту организма от патогенных микроорганизмов. Важную роль в функционировании нейтрофилов играют продукция активных форм кислорода (АФК), связанная с активацией НАДФН-оксидазного комплекса, и высвобождение в процессе секреторной дегрануляции фермента азурофильных гранул – миелопероксидазы (МПО). МПО катализирует образование гипогалоидных кислот, преимущественно хлорноватистой (НОСІ) и бромноватистой (НОВг), характеризующихся высокой галогенирующей и окислительной активностью [1] и совместно с АФК способствующих разрушению и гибели патогенов. В местах воспаления концентрация НОСІ может достигать миллимолярных значений, достаточных для модификации различных молекул в окружающем пространстве. До недавнего времени окисленные/галогенированные липиды, белки и липопroteины крови рассматривали в качестве чувствительных маркеров развития окислительного стресса и повреждения при патологических процессах. В последние годы стало ясно, что молекулы, модифицированные с участием АФК и гипогалоидных кислот, могут выступать регуляторами трансдукции сигнала в иммунных клетках [2,3,4]. Целью данной работы явилось исследование регуляторных функций галогенированного альбумина сыворотки человека (ЧСА), образующегося в реакциях с НОСІ/НОВг, синтез которых катализирует МПО.

ЧСА, модифицированный НОСІ или НОВг, получали путем смешивания равных объемов растворов ЧСА (0,3 мМ) и НОСІ/НОВг (30 мМ). Степень модификации ЧСА контролировали по снижению интенсивности собственной флуоресценции ($\lambda_{\text{возб.}}=285$ нм, $\lambda_{\text{исп.}}=340$ нм), обусловленному деструкцией остатков триптофана в составе белка.

Показано, что альбумин, модифицированный гипогалоидными кислотами, активирует НАДФН-оксидазу нейтрофилов, инициируя продукцию ими H_2O_2 и O_2^- , а также стимулирует экзоцитоз азурофильных и специфических гранул нейтрофилов, который оценивали по выходу из клеток МПО и лактоферрина, соответственно. Ингибитор тирозинкиназ

генестеин (100 мкМ) и ингибитор фосфотидилинозитол-3-киназы вортманнин (100 нМ) на 30 % и 40 %, соответственно, снижали продукцию H_2O_2 нейтрофилами и на 20 % и 30 % ингибировали экзоцитоз МПО. Активация НАДФН-оксидазы и дегрануляция нейтрофилов в ответ на галогенированный альбумин снижались также в присутствии моноклональных антител к CD18 – β_2 -субъединице β_2 -интегрина нейтрофилов.

С применением электронной сканирующей микроскопии показано, что при действии галогенированного альбумина форма нейтрофилов менялась по сравнению с контрольными клетками, которые имели округлую форму. Методом лазерной конфокальной микроскопии с применением флуоресцентного красителя флуоресцеин-фаллоидина к F-актину выявлено, что у большинства клеток появлялись псевдоподии, свидетельствующие о реорганизации цитоскелета.

В итоге можно заключить, что галогенированный альбумин, взаимодействуя с β_2 -интегринами нейтрофилов, активируя тирозинкиназы, фосфотидилинозитол-3-киназы и реорганизацию цитоскелета, инициирует дегрануляцию и продукцию активных форм кислорода нейтрофилами, действуя в очагах воспаления по принципу положительной обратной связи. Таким образом, галогенированный альбумин является важным классом биологически активных веществ и модуляторов воспалительных ответов.

Работа поддержана БРФФИ (грант Б14Р-035) и РФФИ (грант 14-04-00807, 14-04-90007 и 15-34-50014).

Литература:

1. Панасенко О.М., Горудко И.В., Соколов А.В. *Успехи биол. химии*. 2013. Т. 53. С. 195-244 (<http://www.inbi.ras.ru/ubkh/53/Panasenko.pdf>).
2. Sokolov A.V., Kostevich V.A., Runova O.L., Gorudko I.V., Vasilyev V.B., Cherenkevich S.N., Panasenکو O.M. *Chem. Phys. Lipids*. 2014. V. 180. P. 72-80.
3. Михальчик Е.В., Смолина Н.В., Астамирова Т.С., Горудко И.В., Григорьева Д.В., Иванов В.А., Соколов А.В., Костевич В.А., Черенкевич С.Н., Панасенко О.М. *Биофизика*. 2013. Т. 58. С. 681-689.
4. Горудко И.В., Вахрушева Т.В., Мухортова А.В., Черенкевич С.Н., Тимошенко А.В., Сергиенко В.И., Панасенко О.М. *Биол. мембраны*. 2010. Т.27, №4. С. 314-324.

РОЛЬ ЦИТОСКЕЛЕТА В ИНДУЦИРОВАННОЙ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗОЙ ДЕГРАНУЛЯЦИИ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ВОСПАЛЕНИИ

Григорьева Д.В.¹, Горудко И.В.¹, Соколов А.В.^{2,3,4}, Шамова Е.В.¹,
Черенкевич С.Н.¹, Панасенко О.М.⁴

¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

²ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН,
Санкт-Петербург, Россия

³Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

⁴ФГБУН НИИ физико-химической медицины ФМБА России, Москва, Россия

Секреторная дегрануляция клеток – это высвобождение протеолитических ферментов и других компонентов из гранул и меньших по размеру запасающих органелл. При экзоцитозе нейтрофилы высвобождают широкий спектр антимикробных белков (ферментов), многие из которых обладают цитотоксическим действием. Одним из высвобождающихся ферментов является гемсодержащий гликопротеид азурофильных гранул нейтрофилов – миелопероксидаза (МПО). Известно, что помимо проявления своей ферментативной активности (продукция высокореакционных соединений, составляющих основу МПО-зависимой антимикробной системы нейтрофилов), МПО способна связываться с плазматической мембраной и регулировать структурно-функциональные свойства клеток. Установлено, что МПО является аутокринным модулятором активации нейтрофилов (задержка апоптоза, продукция активных форм кислорода, дегрануляция и др.). Поскольку реализация основных функций нейтрофилов зависит от реорганизации цитоскелета, целью данной работы явилось изучение роли цитоскелета в дегрануляции нейтрофилов, активированных МПО в условиях воспаления.

Дегрануляционную способность нейтрофилов при действии МПО оценивали по выходу эластазы, маркера азурофильных гранул, лактоферрина, маркера специфических гранул, и лизоцима, содержащегося в обоих типах гранулах. Активность лизоцима в супернатантах определяли по скорости лизиса бактериальных клеток *Micrococcus lysodeikticus*. Концентрацию лактоферрина в супернатантах определяли методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов ELISA. Выход эластазы оценивали флуоресцентным методом с использованием специфического субстрата – MeO-Suc-Ala-Ala-Pro-Val-MCA. Как видно из данных, представленных в таблице 1, добавление МПО (100 нМ) к нейтрофилам достоверно ($p < 0,05$) увеличивало содержание эластазы, лактоферрина и лизоцима во внеклеточной среде, что свиде-

тествует об инициировании ферментом дегрануляции азурофильных и специфических гранул.

Таблица 1 - Влияние МПО на дегрануляцию нейтрофилов

	Выход лизоцима, % от общей ферментативной активности	Выход лактоферрина, мкг/мл	Скорость накопления флуоресцирующего продукта, отн. ед.
Базальный уровень	16,47±1,05	0,60±0,11	0,27±0,08
МПО (100 нМ)	24,20±0,80	1,01±0,13	0,54±0,04

Установлено, что цитохалазин В (2,5 мкМ) усиливал МПО-индуцированный экзоцитоз лизоцима, эластазы и лактоферрина по сравнению со стимуляцией клеток одной МПО на 19,5±3,1 %, 37,1±8,4 % и 15,3±3,5 %, соответственно. Колхицин (10 мкМ) практически не оказывал влияния на выход лизоцима из клеток при действии МПО. Поскольку цитохалазин В вызывает диссоциацию фибриллярного актина, а колхицин связывается с микротрубочками и способствует их разборке, полученные данные свидетельствуют о том, что дегрануляционный ответ нейтрофилов на МПО зависит от состояния актинового цитоскелета этих клеток.

Кроме того, методом лазерной конфокальной микроскопии была осуществлена визуализация F-актина с помощью флуоресцентного красителя флуоресцеин-фаллоидина, который избирательно связывается с микрофиламентами. Выявлено, что интактные нейтрофилы имели округлую форму с четко выраженным кортикальным цитоскелетом. В присутствии МПО происходило перераспределение F-актина и образование псевдоподий. Мономерная форма МПО, а также МПО, модифицированная НОСІ, теряли способность инициировать реорганизацию актинового цитоскелета.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что после добавления МПО к нейтрофилам происходит полимеризация примембранного F-актина и его перераспределение с образованием псевдоподий, что, в конечном итоге, приводит к усилению дегрануляции клеток.

Работа поддержана РФФИ (гранты 15-34-50014 и 14-04-900007), БРФФИ (грант Б14Р-035).

ЛАКТОФЕРРИН С ОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТОЙ ИНДУЦИРУЕТ ГЕМОЛИЗ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Григорьева Д.В.¹, Луценко В.Е.¹, Власенко А.Ю.², Горудко И.В.¹,
Черенкевич С.Н.¹, Соколов А.В.^{2,3,4}

¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

²ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

³Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

⁴ФГБУН Научно-исследовательский институт физико-химической медицины ФМБА России, Москва, Россия

Недавно в грудном молоке был выявлен комплекс α -лактальбумина с олеиновой кислотой (ОА) (human α -lactalbumin made lethal to tumor cells – HAMLET), обладающий апоптотической активностью в раковых клетках как *in vivo*, так и в клинических испытаниях [1]. В настоящее время установлено, что лактальбумин коровы, лизоцим лошади, а также β -лактоглобулин человека связывают ОА и формируют комплексы, проявляющие противоопухолевую активность.

Лактоферрин (Лф) является глобулярным, железо-связывающим белком с молекулярным весом 78 кДа, широко распространенным в различных секреторных жидкостях, таких как молоко, слезы, слюна и др. Лф в организме человека проявляет многочисленные функции, в том числе антибактериальные и противовоспалительные. В работе [2] показано, что Лф коровы может взаимодействовать с ОА с участием ван-дер-ваальсовых взаимодействий и водородных связей, образуя HAMLET-подобный комплекс.

Выявлено, что Лф с ОА индуцирует апоптоз раковых клеток. Показано, что апоптотическая активность Лф-ОА увеличивается с увеличением содержания ОА [2]. Таким образом, в настоящее время показано, что Лф-ОА обладает цитотоксическим действием в отношении раковых клеток, однако остается неизвестным – как данный комплекс действует на нормальные клетки крови. Поэтому нами исследовано влияние Лф-ОА на лизис эритроцитов крови человека.

Комплексы Лф, выделенного из молока коров, с ОА получали смешиванием белка с ОА и последующим диализом. Так были получены комплексы, содержащие 1, 2, 4 и 8 молекул ОА на 1 молекулу Лф.

Был проведен сравнительный анализ влияния Лф и комплексов Лф-ОА на гемолиз эритроцитов. Установлено, что Лф и комплексы Лф, содержащие различное количество ОА, в концентрации до 700 мкг/мл не вызывают разрушения эритроцитов в суспензии ($4 \cdot 10^6$ кл/мл). При концентрациях комплексов Лф-ОА выше 700 мкг/мл наблюдается гемолиз

эритроцитов, который усиливается как с увеличением концентрации Лф-ОА, так и с увеличением количества ОА в составе Лф. В то же время Лф не содержащий ОА не оказывал токсического эффекта на эритроциты даже при концентрациях выше 5 мг/мл.

Исследовано также действие разных типов комплексов ЛФ с ОА при низких концентрациях, определяемых *in vivo*, на кислотный гемолиз эритроцитов. Показано, что после обработки эритроцитов комплексами Лф-ОА (100 мкг/мл), скорость кислотного гемолиза эритроцитов достоверно ($p < 0,05$) увеличивается на 20-30 %, а время гемолиза уменьшается на 15-20 %. Необходимо отметить, что эффект усиления гемолиза был тем больше, чем выше молярное соотношение Лф:ОА, и достигал 40-50 % при действии комплексов, содержащих 8 молекул ОА на 1 молекулу Лф.

Церулоплазмин (ЦП) – белок острой фазы воспаления, являющийся универсальным антиоксидантом [3]. В работе [4] показано, что данный белок способен образовывать комплексы с Лф и изменять физико-химические свойства последнего. В отличие от комплекса Лф-1ОА, комплекс Лф-8ОА не взаимодействовал с ЦП. Нами было исследовано действие ЦП на способность Лф-8ОА усиливать кислотный гемолиз эритроцитов. После обработки эритроцитов ЦП (300 мкг/мл) Лф-8ОА терял способность усиливать кислотный лизис эритроцитов (скорость и время гемолиза составили $100,1 \pm 2,2$ % и $94,5 \pm 1,0$ %, соответственно, по сравнению с параметрами кислотного гемолиза в контроле). Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что ЦП защищает эритроциты от гемолитического действия Лф-8ОА.

Работа поддержана грантом Президента РФ МК-6062.2014.4.

Литература:

1. Baumann A., Underhaug Gjerde A., Ying M., Svanborg C., Holmsen H., Glomm W.R., Martinez A., Halskau Ø. // *Journal of Molecular Biology*. – 2012. – Vol. 418. – P. 90-102.
2. Fang B., Zhang M., Tian M., Jiang L., Yuan Guo H., Zheng Ren F. // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2014. – Vol. 1841. – P. 535-543.
3. Белов С.В., Карякина Е.В. // *Успехи современной биологии*. – 2010. – Т. 130, №2. – С. 180-189.
4. Sokolov A.V., Ageeva K.V., Pulina M.O., Zakharova E.T., Vasilyev V.B. // *BioMetals*. – 2009. – V. 22. – P. 521-529.

АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА МИТОХОНДРИЙ МОЗГА КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ХРОНИЧЕСКОГО ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА

Демидов Д.И., Чумаченко С.С., Андреев В.П., Надольник Л.И.

*Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси,
Гродно, Беларусь*

Мозг является тканью с высокой метаболической активностью, зависимой от процессов окислительного фосфорилирования. Одним из косвенных результатов этих процессов является продукция радикалов кислорода, способных индуцировать ПОЛ, повреждать компоненты ЭТЦ и другие клеточные компоненты. Митохондрии являются главным местом производства АФК, атакующих множество митохондриальных белков. В результате жизненные функции митохондрий, включая производство энергии, поддержание мембранного потенциала и ионного гомеостаза клетки, ухудшаются на ранней стадии окислительного стресса. Индуцируемые хроническим стрессом изменения в мозге могут быть связаны с нарушением биоэнергетических процессов и функцией митохондрий. Регуляция активности АОС в мозге представляет значительный интерес, учитывая её ведущую роль в защите клеток мозга от деструктивных нарушений.

Цель работы: оценить эффекты хронического психоэмоционального стресса на активность ПОЛ, показатели АОС и их взаимосвязь с функциональной активностью митохондрий.

Материалы и методы исследования. Экспериментальные исследования проведены на самцах крыс Wistar массой 200-240 г. Хронический стресс моделировали, используя модифицированные методики Desiderato O. и Толмачева Д.А. Крыс подвергали комбинированному стрессорному воздействию (мягкое раздражение нижних конечностей, прерывистый шум и световое воздействие). Исследования проведены на трех группах животных: 1) интактный контроль; 2) стресс в течение 20 минут ежедневно на протяжении 28-30 суток, декапитация после последнего воздействия стресса; 3) стресс в течение 20 минут ежедневно на протяжении 28-30 суток+восстановительный период, декапитация животных проводилась через 24 часа после завершения стресса.

Результаты. Митохондрии чрезвычайно чувствительны к повреждающим эффектам свободных радикалов кислорода и азота, несмотря на высокую активность АОС защиты. Нами установлено, что уровень ТБКРС в постстрессорный период повысился на 30% в сравнении с кон-

тролем, что свидетельствует о смещении антиоксидантно/прооксидантного баланса в сторону преобладания прооксидантных процессов. Уровень глутатиона, важнейший из показателей, характеризующих состояние АОС мозга, повысился в митохондриях на 15% только через 24 часа восстановительного периода при хроническом стрессе. В митохондриях группы стресс на фоне повышения функциональной активности ферментов ЦТК и отсутствия изменений в потреблении кислорода изменения показателей АОС не обнаружено.

Мп-СОД или СОД 2, – специфичный фермент АОС митохондрий, – играет важную роль в обезвреживании $O_2^{\cdot-}$; она локализована в митохондриальном матриксе, ее единственная функция состоит в ускорении дисмутации $O_2^{\cdot-}$ в H_2O_2 . ГПО работает параллельно с СОД 2, обезвреживая внутримитохондриальный H_2O_2 . При воздействии хронического стресса выявлено ингибирование активности СОД (снижение на 35% в пост-стрессорный период по сравнению с контрольной группой). При этом достоверных изменений активности ГПО не обнаружено. Снижение активности СОД при отсутствии изменений активности ГПО может быть следствием напряжения/истощения АОС защиты при хроническом стрессе. Необходимо отметить, что в присутствии избыточного количества H_2O_2 СОД может образовывать высокореакционный гидроксильный радикал, который атакует молекулу белка, приводя к ее фрагментации и потере активности. Предполагаем, что данный механизм снижения активности СОД может иметь место при хроническом стрессе. Нельзя исключить также и снижение экспрессии гена СОД или нарушение механизмов регуляции её активности при хроническом стрессе.

Закключение. Полученные данные свидетельствуют о напряжении/истощении функций АОС в митохондриях мозга при воздействии хронического стресса. Это согласуется с выявленными деструктивными нарушениями митохондрий (набухание митохондрий, разрушение крист, нарушение процессов деления), обнаруженными при электронно-микроскопическом исследовании, и может быть связано с высокой функциональной активностью митохондрий мозга при воздействии психоэмоционального стресса.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского Республиканского фонда фундаментальных исследований (грант М13 МС-034).

ЭФФЕКТ L-АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА СИСТЕМУ КАЛЬЦИЕВОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Демидчик В.В., Тюркина Е.П., Мозолевская А.А.,
Батулев А.В., Соколик А.И.

*Кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений, биологический факультет,
Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

Важной проблемой биологии растений является выявление природных регуляторов активности Ca^{2+} -сигнализации, представляющей собой основную сигнальную систему растительной клетки. К таким регуляторам относятся в первую очередь вещества, которые экскретируются во внеклеточное пространство растительной клеткой. Недавно было установлено, что присутствие во внеклеточной среде определенных аминокислот, пуринов и активных форм кислорода способно активировать значительные по величине Ca^{2+} -сигналы. Тем не менее, остается непроанализированным действие большого числа других потенциальных сигнальных молекул. Среди веществ, концентрация которых в апопласте достаточно высока и стабильна, особое место занимает L-аскорбиновая кислота и продукты ее окисления (моно- и дегидроаскорбиновые кислоты). Сигнальная роль аскорбата у высших растений не изучена. Известно, что это аскорбат имеет большое значение как антиоксидант в оргanelлах и в цитоплазме, где его уровень достигает 10^{-2} - 10^{-1} моль/л. Во внеклеточном пространстве некоторых тканей высших растений уровень аскорбата может достигать 10^{-4} - 10^{-3} моль/л. Действие на $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит.}}$ аминокислот, пуринов и H_2O_2 наблюдается в том же концентрационном диапазоне, поэтому аскорбат можно потенциально рассматривать в качестве сигнального агента. В этой связи целью настоящей работы являлось установление закономерностей воздействия L-аскорбиновой кислоты на цитоплазматическую активность Ca^{2+} в клетках интактных растений *Arabidopsis thaliana* L. Neynh. В работе были адаптированы методы культивирования *in vitro* в гелевых средах трансгенных растений арабидопсиса, конститутивно экспрессирующих Ca^{2+} -связывающий белок экворин. Была использована техника регистрации свечения экворина при помощи люминометрических подходов. В результате проведенных опытов было показано, что аскорбат активирует вход Ca^{2+} в клетки корня, приводя к временному обратимому росту увеличения активности данного катиона в цитоплазме. Обнаруженный эффект развивался при концентрации аскорбата выше 10^{-4} моль/л, достигая максимума при 10^{-2} моль/л. Индуцируемый аскорбатом рост цитоплазматической активности Ca^{2+} ингибировался введением в наружный раствор ионов гадолиния, являющихся

блокаторами катионных каналов растений. Данный эффект показал, что за увеличение уровня Ca^{2+} в цитоплазме были ответственны Ca^{2+} -проницаемые каналы плазматической мембраны, а не схожие системы эндоплазматической мембраны. Хелаторы ионов меди и железа ингибировали возрастание цитоплазматической активности Ca^{2+} под действием экзогенного аскорбата, что указывает на особую роль переходных металлов клеточной стенки в развитии аскорбат-зависимой кальциевой сигнализации. Аскорбат-индуцируемые Ca^{2+} -сигналы достигали максимума при pH 6 и снижались при щелочных pH, что дополнительно свидетельствует о потенциальном участии переходных металлов в аскорбат-зависимой сигнализации. Таким образом, полученные данные показали наличие в клетках корней арабидопсиса сигнальной Ca^{2+} -зависимой системы, распознающей L-аскорбиновую кислоту. Данная система, вероятно, опосредована Ca^{2+} -проницаемыми катионными каналами и зависит от генерации гидроксильных радикалов в клеточной стенке под действием ионов переходных металлов, таких как медь и железо.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АКЦЕПТОРОВ ЗАРЯДА НА ПРОЦЕСС РАДИАЦИОННО-ХИМИЧЕСКОГО КАРБОКСИЛИРОВАНИЯ СИСТЕМЫ ИНДОЛ – СЕРИН

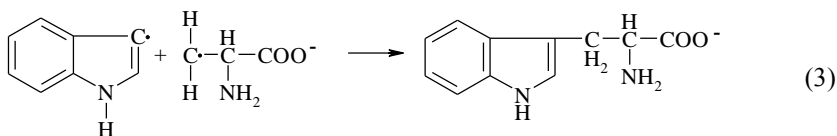
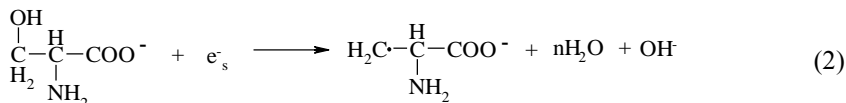
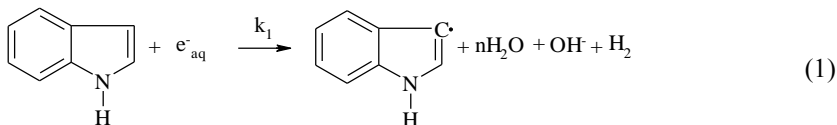
Жигунова Л.Н., Ничипор Г.В., Шевцова О.В.

Государственное научное учреждение «Объединенный институт энергетических и ядерных исследований – Сосны» НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Значительный интерес к радиационно-химическому карбоксилированию системы индол – серин обусловлен перспективой ее использования для получения незаменимой аминокислоты – триптофана. В данной работе исследуется влияние акцепторов заряда – дифенила и пероксида водорода на механизм образования β -индолиламинопропионовой кислоты при карбоксилировании спирто-водной системы индол – серин. Радиолиз осуществляли γ -лучами радиоактивного изотопа ^{60}Co на γ -установке УГУ- 420А в статических условиях при мощности дозы 1.2 Гр/с. Изучаемую систему, состоящую из спиртового раствора индола и водного раствора серина в соотношении 1:1, насыщенную углекислым газом и подвергшуюся радиационной обработке, исследовали методом тонкослойной хроматографии для определения аминокислот. Погрешность определения составила $\pm 5\%$. В результате получены зависимость содержания триптофана от концентрации акцептора заряда – дифенила и зависимость образования триптофана от концентрации пероксида водорода при радиационно-химическом карбоксилировании в системе

индол – серин. С возрастанием концентрации дифенила (соответственно, пероксида водорода) происходит снижение концентрации триптофана.

В спиртово-водном растворе концентрация этанола намного превышает концентрации серина и индола, поэтому Н-атомы и ОН-радикалы в исследуемой системе будут преимущественно взаимодействовать с этанолом. Сольватированный электрон не взаимодействует с этанолом, но взаимодействует либо с индолом либо с серином. Поэтому только при взаимодействии сольватированного электрона с индолом и серином могут образовываться индольный радикал и радикал аланина взаимодействие которых между собой дает триптофан (реакции (1)–(3)).



В таблице приведены экспериментальные и расчетные значения радиационно-химических выходов триптофана в смеси индол – серин с добавками пероксида водорода.

Таблица - Зависимость выхода β-индолиламинопропионовой кислоты от добавок пероксида водорода

[с] _{пероксида водорода} , моль/л	[с] _{тр} , ммоль/мл	G _т , мол/100 эВ	G _{тр} _{расч} , мол/100 эВ	±G
0	17.85	0.6	0.6	0.06
3.35×10 ⁻³	17.90	0.572	0.58	0.05
2.18×10 ⁻²	14.27	0.457	0.53	0.08
4.35×10 ⁻²	11.90	0.38	0.48	0.06
2.18×10 ⁻¹	6.37	0.204	—	0.04
4.35×10 ⁻¹	0.98	0.031	0.076	0.006

Проведенные нами расчетно-теоретические исследования и полученные экспериментальные зависимости свидетельствуют об определяющей роли сольватированного электрона в механизме образования β-индолиламинопропионовой кислоты.

РАЗРАБОТКА АНАЛИЗА АМИНОКИСЛОТ СЕРИНА И ГЛИЦИНА МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФЕРЕЗА

Завадская О.А., Фалетров Я.В., Рудая Е.В., Фролова Н.С.,
Шкуматов В.М.

Лаборатория биохимии лекарственных препаратов НИИ ФХП БГУ

Капиллярный электрофорез представляет собой новую технику разделения и анализа веществ [1]. Нами подобраны условия электрофоретического разделения ряда аминокислот (АК), в частности серина (Ser) и глицина (Gly). Интерес к данной паре АК обусловлен и тем, что в работах сотрудников кафедры радиационной химии и химико-фармацевтической технологии химического факультета БГУ показано радиационно-индуцированное превращение Ser в Gly [2]. АК анализировались после дериватизации с 4-хлоро-7-нитро-2,1,3-бензоксадиазолом (НБД-хлоридом). Оптические свойства НБД-производных аминов ($\epsilon_{470\text{нм}}$ 20000 М⁻¹см⁻¹; флуоресценция при λ возбуждения и эмиссии 470 и 530 нм, соответственно; квантовый выход в метаноле 20 %) позволяют селективно детектировать их по поглощению и флуоресценции, что использовалось авторами при анализе биопревращений 22-НБД-холестерина [3]. Разделение АК осуществлено на приборе Р/АСЕ MDQ (Beckman-Coulter, США) с диодно-матричным детектором. Был использован кварцевый капилляр с эффективной длиной 30 см. Образцы вводились под давлением (0,5 psi, 5,0 с). Разделение АК проводилось в растворе 20 мМ тетрабората натрия (рН 9,2), при напряжении 15 кВ и температуре 25 °С. АК детектировали по поглощению при 470 нм. Времена миграции НБД-Ser и НБД-Gly составили 4,99±0,02 и 5,13±0,04, соответственно. Параметры разрешения и предел обнаружения (сигнал:шум 1:4) составили 1,2 и 1 мкМ, соответственно. Дальнейшая разработка метода позволит использовать его для анализа свободно-радикальных превращений Ser и других АК.

Литература:

1. Capillary electrophoresis of natural products: 2011-2012 // Electrophoresis. – 2014. – Vol. 35, № 1. – P. 190-204.
2. Radiation-induced destruction of hydroxyl-containing amino acids and dipeptides // Radiat. Phys. Chem. – 2012. – Vol. 81, № 12. – P. 1896–1903.
3. 22-NBD-cholesterol as a novel fluorescent substrate for cholesterolconverting oxidoreductases // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. – 2013. – Vol. 134. – P. 59-56.

ВЛИЯНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ И ПЕРЕХВАТЧИКОВ ГИПОГАЛОИДНЫХ КИСЛОТ НА АКТИВАЦИЮ НЕЙТРОФИЛОВ ЛИПОПРОТЕИНАМИ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ, МОДИФИЦИРОВАННЫМИ В УСЛОВИЯХ, МОДЕЛИРУЮЩИХ ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ/ГАЛОГЕНИРУЮЩИЙ СТРЕСС

Иванов В.А.¹, Михальчик Е.В.¹, Горудко И.В.², Григорьева Д.В.²,
Соколов А.В.^{1,3}, Костевич В.А.^{1,3}, Мацкевич В.А.¹, Панасенко О.М.¹

¹ФГБУН НИИ физико-химической медицины ФМБА России, Москва, Россия

²Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

³ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

В организме человека присутствуют ферменты семейства гемсодержащих пероксидаз млекопитающих (донор: H_2O_2 -оксидоредуктазы, КФ 1.11.1.7), к которым принадлежит и миелопероксидаза (МПО). МПО секретируется в результате активации и дегрануляции нейтрофилов в очаге воспаления во внеклеточное пространство и катализирует реакции образования активных форм галогенов (АФГ: $HOCl$, $NOBr$ и др.) – сильных окислителей и галогенирующих агентов. С одной стороны, благодаря этой способности МПО осуществляет антимикробную функцию, с другой – участвует в повреждении клеток и тканей организма-хозяина, что приводит к развитию окислительного/галогенирующего стресса [1]. Одной из мишеней АФГ являются липопroteины низкой плотности (ЛНП) крови, модификация которых в условиях окислительного/галогенирующего стресса придает им атерогенные свойства, что способствует накоплению холестерина в субэндотелиальных клетках и развитию ранних стадий атеросклероза [2]. В то же время, в организме имеются антигалогенирующие агенты, препятствующие секреции пероксидаз во внеклеточное пространство, снижающие их галогенирующую активность и перехватывающие АФГ. От того, насколько сбалансирована работа про- и анти-галогенирующих систем, зависит судьба возникновения окислительного/галогенирующего стресса, течения воспалительного процесса и развития атеросклероза. Целью данной работы было выяснить, как соединения, обладающие антиокислительными свойствами и способностью перехватывать АФГ (церулоплазмин (ЦП), альбумин сыворотки крови человека (ЧСА), глутатион, таурин, цистеин, метионин), влияют на активацию нейтрофилов ЛНП, модифицированными в условиях, моделирующих окислительный/галогенирующий стресс (м-ЛНП).

Условия возникновения стресса моделировали путем воздействия на ЛНП $HOCl$ в мольном соотношении 1:100 (30 мин при 37°C). Активацию изолированных из донорской крови нейтрофилов регистрировали 1) ме-

тодом люминол-зависимой хемиллюминесценции (ХЛ) в ответ на добавление ЛНП или м-ЛНП и последующее добавление активатора – форбол-12-миристат-13-ацетата (ФМА) [3]; 2) по продукции H_2O_2 флуоресцентным методом с использованием скополетина в качестве субстрата пероксидной реакции [4].

Показано, что м-ЛНП увеличивают по сравнению с нативными ЛНП скорость продукции нейтрофилами H_2O_2 в ~1,5 раза. Это сопровождается увеличением ХЛ нейтрофилов, особенно в ответ на последующее после м-ЛНП добавление ФМА (в ~2,7 раза), что может свидетельствовать о праймирующем эффекте м-ЛНП в отношении окислительного взрыва нейтрофилов. Эффективные перехватчики НОСl: метионин (100 мкМ) и таурин (1 мМ), а также ЧСА (500 мкг/мл) и природный ингибитор МПО – ЦП (300 мкг/мл) снижали продукцию H_2O_2 нейтрофилами, стимулированными м-ЛНП на 37, 32, 63 и 41%, соответственно. В то же время, цистеин (33 мкМ), метионин (1,3 мМ), таурин (2,4 мМ), ЧСА (100 мкг/мл) и ЦП (360 мкг/мл) снижали ХЛ нейтрофилов, праймированных м-ЛНП, в ответ на ФМА на 57, 36, 12, 42 и 38%, соответственно.

Полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что природные антиоксиданты и перехватчики гипогалоидных кислот препятствуют активации нейтрофилов в ответ на м-ЛНП, снижая тем самым вероятность возникновения окислительного/галогенирующего стресса.

Работа поддержана РФФИ, гранты: №14-04-00807 и 14-04-90007.

Литература:

1. Панасенко О.М., Горудко И.В., Соколов А.В. *Успехи биол. химии*. 2013. Т. 53. С. 195–244 (<http://www.inbi.ras.ru/ubkh/53/Panasenko.pdf>).
2. Sokolov A.V., Kostevich V.A., Runova O.L., Gorudko I.V., Vasilyev V.B., Cherenkevich S.N., Panasenko O.M. *Chem. Phys. Lipids*. 2014. V. 180. P. 72–80.
3. Михальчик Е.В., Смолина Н.В., Астамирова Т.С., Горудко И.В., Григорьева Д.В., Иванов В.А., Соколов А.В., Костевич В.А., Черенкевич С.Н., Панасенко О.М. *Биофизика*. 2013. Т. 58. С. 681–689.
4. Timoshenko A.V., Kayser K., Gabius H.J. *Methods Mol. Med*. 1998. V. 9. P. 441–451.

ВОЗДЕЙСТВИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ НА УКОРЕНЕНИЕ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ САЖЕНЦЕВ ДЕКОРАТИВНЫХ ХВОЙНЫХ РАСТЕНИЙ

Колбанов Д.В.¹, Батулев А.В.², Легерова Е.О.², Донская И.И.²,
Чайкун С.А.¹, Демидчик В.В.²

¹Department of Plant Cell Biology and Bioengineering, Biological Faculty, Belarusian State University, Minsk, Belarus

²Республиканское учебно-опытное унитарное предприятие «Щемяслица»,
Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Массовое размножение декоративных хвойных пород, в промышленных масштабах, в особенности, с сохранением ценных фенотипических признаков, представляет собой важную задачу биотехнологии. В основе ее решения лежит как усовершенствование асептических методов вегетативного клонирования, так и повышение эффективности технологии размножения зелеными черенками в нестерильных условиях. Для обоих подходов важной задачей выступает снижение последствий раневого стресса при черенковании и перенесении в новых условия. Отрыв черенка и его механическая обработка сопровождаются развитием оксидативного стресса, что резко снижает иммунитет и способствует поражению грибными и бактериальными инфекциями.

Настоящей работе предшествовала гипотеза, согласно которой устранение свободных радикалов и последствий оксидативного стресса может ускорить восстановление и укоренение черенков. В последние годы показано, что при оксидативном стрессе ключевой повреждающей активной формой кислорода выступает гидроксильный радикал. Применение «скавенджеров» гидроксильных радикалов - мобильных низкомолекулярных антиоксидантов потенциально может устранять образующиеся при раневом стрессе гидроксильные радикалы и обеспечивать растению более благоприятные условия для укоренения и выживания. В настоящей работе было протестировано влияние ряда таких соединений, а именно диметилсульфоксида (ДМСО), тиомочевины и L-аскорбиновой кислоты, на укоренение и жизнеспособность черенков ели колючей (*Picea pungens* Engelm.) и туи западной (*Thuja occidentalis* L. Smagard) при их вегетативном размножении в нестерильных условиях. Способность данных веществ связывать гидроксильные радикалы была подтверждена при помощи спектроскопии электронно-парамагнитного резонанса и спиновой ловушки 5,5-диметил-1-пирролин-N-оксид. Генерация гидроксильных радикалов при этом производилась при помощи системы Cu^{2+} /аскорбат/ H_2O_2 . Обработка черенков туи и ели антиоксидантами

производилась в течение 24 часов перед высадкой их в почву. Анализ жизнеспособных и укоренившихся растений проводили через 60 и 300 дней после обработки.

В результате проведенных опытов было показано, что обработка каждым из трех протестированных антиоксидантов увеличивала долю выживших черенков. Количество потенциально-укоренившихся черенков возрастало в ряду контроль < аскорбат < тиомочевина < ДМСО. Для ДМСО была отмечена высокая способность предотвращать отмирание черенков после раневого стресса (80% растений выживали, в то время как в контроле эта цифра составляла 15-20%). Данное действие ДМСО не было известно ранее и имеет несомненный практический и фундаментальный интерес. ДМСО – стабильное вещество, которое является сильнейшим «скавенджером» гидроксильных радикалов, а также пероксинитрита, синглетного кислорода и хлоросодержащих окислителей. Использование его в качестве вещества, повышающего эффективность процедур укоренения посадочного материала может иметь большие перспективы.

ТРИТЕРПЕНОВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ РАСТЕНИЙ РОДА ШАЛФЕЙ

Кондратова Ю.А., Бубенчикова В.Н.

ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет Минздрава России», кафедра фармакогнозии и ботаники, Курск, Россия

The results of the qualitative detection of triterpene compounds. Thin layer chromatography methods with authentic samples in herbs *Salvia pratensis* L., *Salvia nutans* L., *Salvia verticillata* L., *Salvia splendens* Ker.-Gawl., *Salvia horminum* L., *Salvia glutinosa* L. identified ursolic and oleanolic acid. Quantitative content of triterpene saponins varies from 0,20% (*Salvia horminum* L.) to 0,41% (*Salvia pratensis* L.).

Род Шалфей (*Salvia* L.) является многочисленным по видовому составу в семействе яснотковые (губоцветные) *Lamiaceae* (*Labiatae*). Некоторые виды данного рода, такие как шалфей лекарственный, шалфей мускатный, введены в культуру. Другие же представители широко встречаются в дикорастущем виде. Растения рода шалфей содержат комплекс биологически активных веществ, проявляющих антибактериальную, ранозаживляющую, противовоспалительную активность [2]. Среди таких веществ, которые в совокупности отвечают за фармакологическую активность видов рода шалфей, можно выделить и тритерпеновые соединения, изучение которых является актуальным.

Целью нашей работы является изучение тритерпеновых сапонинов растений рода шалфей.

Материалы и методы. Объектом исследования служила измельченная воздушно-сухая трава дикорастущих видов: шалфея лугового, шалфея поникающего, шалфея мутноватого заготовленная на территории Курской области и культивируемых видов: шалфея блестящего, шалфея горминового, шалфея клейкого собранная в Ботаническом саду КГМУ в период массового цветения растения. Для определения наличия тритерпеновых сапонинов готовили спирто-водное извлечение в соотношении 1:10 растворитель отгоняли до водного остатка, охлаждали, фильтровали и фильтрат использовали для жидкостной экстракции органическими растворителями: диэтиловым эфиром, этилацетатом, бутанолом [1]. Наличие тритерпеновых соединений определяли в спирто-водных фракциях с помощью качественных реакций: пенообразования, реакцией Фонтан-Канделя, со средним ацетатом свинца. Для идентификации тритерпеновых соединений спирто-водную фракцию хроматографировали в тонком слое сорбента на пластинках «Силуфол» в системе растворителей: хлороформ-этилацетат (9:1). Раствором для детектирования послужила кислота серная 20%. Количественное содержание тритерпеновых соединений проводили фотоэлектроколориметрическим методом, основанным на реакции с концентрированной кислотой серной, с последующим измерением оптической плотности. Оптическую плотность измеряли на ФЭКе при длине волны 490 нм, используя в качестве раствора сравнения воду.

Результаты исследования. Положительный эффект качественных реакций позволил установить наличие тритерпеновых сапонинов в извлечениях из сырья шалфея. Методом тонкослойной хроматографии в спирто-водных фракциях, полученных из травы растений рода шалфей с достоверными образцами идентифицировали урсоловую и олеоноловую кислоты. В результате проведенных исследований установили, что количественное содержание тритерпеновых сапонинов в надземной части дикорастущих видов рода шалфей составляет: 0,36% - шалфей поникающий, 0,41% - шалфей луговой, 0,32% - шалфей мутноватый, а в надземной части культивируемых видов накапливается до 0,31% - шалфей блестящий, 0,28% - шалфей клейкий, 0,20% - шалфей горминовый.

Выводы. Таким образом, в изучаемых видах рода шалфей доказано наличие тритерпеновых сапонинов, установлено их количественное содержание.

Литература:

1. Бубенчиков, Р.А., Позднякова Т.А. Фитохимическое изучение травы герани сибирской (*Geranium sibiricum* L.) // Современные проблемы отечественной меди-

- ко-биологической и фармацевтической промышленности. Развитие инновационного и кадрового потенциала Пензенской области. Материалы II Международной научно-практической конференции. – Пенза, 9-10 ноября 2012 г. – С.328-331
2. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 4. Семейства Caprifoliaceae – Lobeliaceae / Отв. ред. А.Л. Буданцев. – СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2011. – 630 с.

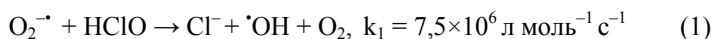
О ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ГИПОХЛОРИТА С НЕКОТОРЫМИ БИОРАДИКАЛАМИ

Кособуцкий В.С., Лисовский К.Ю.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Свободные радикалы играют важную роль в процессах жизнеобеспечения клеток в условиях нормы, а при образовании в избыточных концентрациях - являются факторами дезорганизации всех структур клеток и их гибели. Основным источником свободных радикалов в организме является кислород. К активным формам кислорода относятся $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , $\cdot OH$. Кроме супероксида, семихиноны также относятся к первичным природным радикалам организма. Они постоянно образуются на внутренних мембранах митохондрий и являются самыми распространенными радикалами в организме человека. При попадании в организм вирусов, бактерий запускается процесс фагоцитоза. В этом процессе идет наработка гипохлорита (ГПХ) [1-3].

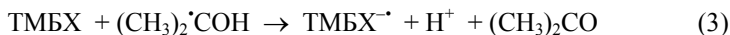
В [3,4] сообщается о взаимодействии $HOCl$ с супероксидом по реакции (1) и приведена константа скорости этой реакции



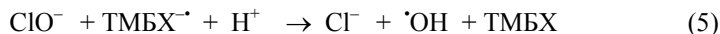
Мы изучали взаимодействие ГПХ с гидроксильными радикалами и семихинонами. Радикалы $(CH_3)_2\dot{C}OH$ генерировали действием γ -излучения на водные дезаэрированные растворы пропанола-2 с различной концентрацией ГПХ. Наблюдали возрастание выхода ацетона с 2,2 до 97 молекула/100 эВ при $[ГПХ]=0,01 \text{ М}$. Методом стационарных концентраций (МСК) по зависимости выхода ацетона от концентрации ГПХ рассчитана константа скорости реакции (2), которая составила $k_2 = 3,4 \times 10^4 \text{ л моль}^{-1} \text{ с}^{-1}$.



Семихиноны генерировали в водном растворе пропанола-2 с триметил-1,4-бензохиноном ($[ТМБХ] = 0,007 \text{ M}$) по реакциям (3 и 4).



Измеряли выход ацетона в зависимости от концентрации ГПХ в интервале $0 - 0,0006 \text{ M}$, который возрастал с 4,2 до 6,0 молекула/100эВ. Оценку константы скорости реакции (5) проводили аналогично по МСК относительно константы скорости реакции диспропорционирования семихинонов, которая принималась равной $1,6 \times 10^7 \text{ л моль}^{-1} \text{ с}^{-1}$, как для семихинонов тетраметил-1,4-бензохинона [5]. Величина k_5 составила $1,1 \times 10^3 \text{ л моль}^{-1} \text{ с}^{-1}$.



Таким образом, гипохлорит способен легко окислять углеродцентрированные α -гидроксилсодержащие радикалы до карбонильных соединений. Процесс окисления может иметь цепной характер из-за образования $\cdot OH$ радикала в этой реакции. Семихиноны реагируют с гипохлоритом медленнее, но также с образованием гидроксильного радикала.

При взаимодействии неактивных в реакциях отрыва радикалов ($O_2^{\cdot-}$, $R\cdot CON$, $BX^{\cdot-}$) с гипохлоритом генерируются агрессивные для биообъектов гидроксильные радикалы.

Литература:

1. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н.// Современные наукоемкие технологии. - 2006. - № 6.- С.28-34.
2. Владимиров Ю. А. // Соросовский образовательный журнал.- 2000.-Т. 6, №12.- С.13-19.
3. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. Free radicals in biology and medicine. Oxford: University Press, 4-th edition, 2012.
4. Long C.A., Bielski B.H.J. //J. Phys. Chem. 1980. V.84. P. 555-557.
5. Denisov E.T., Khudyakov I.V. // Chem. Rev. -1987. -Vol. 87, № 6.- P.1313-1328.

ЭКЗОГЕННЫЙ АПО-ЛАКТОФЕРРИН, ВВЕДЕННЫЙ ГРЫЗУНАМ ВО ВРЕМЯ ЛАКТАЦИИ, ВЫЗЫВАЕТ СТАБИЛИЗАЦИЮ ГИПОКСИЯ ИНДУЦИБЕЛЬНЫХ ФАКТОРОВ-1/2А У САМОК И ПОТОМСТВА

Костевич В.А., Соколов А.В., Захарова Е.Т., Васильев В.Б.

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Ранее нами было показано, что лактоферрин (ЛФ) вызывает стабилизацию гипоксия-индуцибельного фактора 1-альфа (ГИФ-1а), адаптационного транскрипционного фактора при введении грызунам, увеличивая экспрессию нейропротективных факторов мозга, эритропоэтина и церулоплазмينا. Применение хелаторов железа как миметиков гипоксии используется для активации адаптационных резервов при нейродегенерации. Однако лекарственные препараты хелаторов железа не показаны при беременности и лактации. В отличие от человека, являющегося рекордсменом по содержанию ЛФ в молоке, другие виды млекопитающих секретируют в молоко на порядок меньшие количества ЛФ, иногда заменяя его трансферрином (крыса, собака).

Целью данного исследования было изучение способности экзогенных ЛФ человека и коровы проникать в молоко лактирующих крыс и мышей и стабилизировать ГИФ-1/2а у их потомства. По данным Вестерн-блоттинга при анализе белков гомогенатов мозга, печени и селезенки у самок и потомства, через сутки после введения лактирующим грызунам апо-формы ЛФ, обнаруживается ГИФ-1/2а, в отличие от введения насыщенного железом ЛФ. Известно, что стабилизация ГИФ-1а под действием апо-ЛФ обусловлена ингибированием железо-зависимой пролил-гидроксилазы 2 (PND2), вызывающей деградацию ГИФ-1а в условиях нормоксии.

Нами впервые обнаружена стабилизация ГИФ-1/2а в потомстве грызунов, как при внутрибрюшинном введении апо-форм ЛФ человека и коровы лактирующим крысам (25-100 мг) и мышам (5-10 мг), так и при добавлении белков в питьевую воду в концентрации 5 мг/мл. Результаты данного исследования являются предпосылкой для исследования влияния стабилизации ГИФ-1/2а с помощью ЛФ при поражениях нервной системы у потомства, а также свидетельствуют в пользу защитной роли ЛФ при грудном вскармливании.

Исследование поддержано грантами РФФИ № 13-04-01191, МК-6062.2014.4 и программой РАМН «Протеом человека».

ИЗМЕНЕНИЕ ПРОТЕАЗНО-АНТИПРОТЕАЗНОГО БАЛАНСА В ЛЕГКИХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРОКСИИ И ЕГО КОРРЕКЦИЯ

Котович И.Л., Рутковская Ж.А., Таганович А.Д.

*Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Беларусь*

Респираторные нарушения являются одним из распространенных осложнений недоношенности и основной причиной высокой перинатальной смертности в этой группе пациентов. В дальнейшем у таких детей часто развивается хроническая патология легких – бронхолегочная дисплазия (БЛД), - которая характеризуется формированием стойких структурных изменений в легких, уменьшением количества и увеличением размера альвеол, дисрегуляцией васкуляризации легких. Состояние системы «протеазы/антипротеазы» на разных стадиях развития БЛД и возможность предотвращения формирования нарушений в легких у недоношенных новорожденных изучены недостаточно.

Цель настоящей работы – изучить характер изменения показателей системы «протеазы/антипротеазы» в легких и плазме новорожденных животных в условиях экспериментального моделирования БЛД, а также оценить возможность коррекции метаболических и структурных нарушений в легких с использованием антиоксидантов.

Материалы и методы. Моделирование изменений в легких, характерных для БЛД, проводили в условиях длительной гипероксии (концентрация кислорода не менее 70%, длительность инкубации - 1, 3, 7 и 14 суток) с использованием новорожденных морских свинок (n=6-10 в каждой группе). Для коррекции изменений в легких применяли ингаляционное введение (1 раз в два дня) водного раствора N-ацетилцистеина (250 мг/кг), липосомных форм N-ацетилцистеина (250 мг/кг), альфатокоферола (12,5 мг/кг) и ретиноидов (ретинол 6 мг/кг + ретиноевая кислота 0,6 мг/кг). В качестве основного липидного компонента липосом использовали дипальмитоилфосфатидилхолин (ДПФХ, 45-50 мг/кг). Выбор препаратов обусловлен наличием в литературе данных о регулирующем влиянии редокс-статуса на систему протеаз и их ингибиторов. Эффективность коррекции нарушений оценивали на 14 сутки. В легких и плазме экспериментальных животных определяли содержание нейтрофильной эластазы, матриксных металлопротеиназ (ММП-2 и ММП-9) (ELISA), активность альфа1-антитрипсина (спектрофотометрический ме-

тод). Показатели независимых групп сравнивали с помощью U-теста Манна Уитни, различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Уровень матричных металлопротеиназ в легких новорожденных морских свинок повышался уже на 3-и сутки гипероксии до 166% и 244% от контроля для ММП-2 и ММП-9 соответственно, и оставался повышенным при увеличении длительности воздействия гипероксии. На 7-е сутки гипероксии в легких было выявлено увеличение содержания нейтрофильной эластазы (202% от контроля), которое сохранялось и спустя 14-е суток воздействия. Следует отметить, что повышение уровня протеаз в плазме крови обнаруживалось позднее: на 7-е сутки для ММП и на 14-е сутки для нейтрофильной эластазы.

Активность протеаз в легких регулируется системой ингибиторов, важнейшим представителем которых является альфа1-антитрипсин. Мы обнаружили, что активность альфа1-антитрипсина в гомогенатах легких новорожденных морских свинок была достоверно повышена во все изучаемые сроки воздействия гипероксии до 154 - 225% по сравнению с контролем. Несмотря на это, соотношение эластазы/антитрипсин спустя 14 суток гипероксии в 1,8 раза превышало аналогичный показатель в контрольной группе, в легких при этом нами обнаружено уменьшение содержания коллагена, в среднем, на 34%.

При всех изученных способах коррекции увеличение активности альфа1-антитрипсина в легких животных было еще более выраженным, чем при изолированном действии гипероксии. Содержание матричных металлопротеаз в легких под влиянием антиоксидантов достоверно не изменялось, а нейтрофильной эластазы – снижалось до уровня контрольных значений (исключение составила группа, получавшая альфатокоферол), при этом содержание коллагена в легких соответствовало группе контроля.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о наличии сдвига равновесия в системе протеазы/антипротеазы в легких животных, подвергнутых гипероксии, в сторону активации протеолитических процессов, что может вносить вклад в повреждение легких с развитием диспластических изменений. Ингаляционное введение на фоне гипероксии водной и липосомной форм N-ацетилцистеина, а также липосом, содержащих альфа-токоферол и ретиноиды, способствует коррекции дисбаланса в системе протеазы/антипротеазы в легких за счет уменьшения соотношения «нейтрофильная эластаза/альфа1-антитрипсин».

ХИНОНОПОСРЕДОВАННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В МИТОХОНДРИЯХ КЛЕТОК ГЛИОМЫ

Крылова Н.Г., Кулагова Т.А., Семенкова Г.Н.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Активные формы кислорода (АФК), продуцируемые митохондриями, участвуют в регуляции клеточного цикла, апоптоза и дифференцировки. В опухолевых клетках нарушается протекание этих процессов, ассоциированное, в том числе, с митохондриальной дисфункцией. На фоне снижения образования АТФ в опухолевых клетках, повышается величина трансмембранного потенциала и продукция АФК в митохондриях. В настоящее время митохондрии рассматриваются как перспективная мишень противоопухолевой терапии. Соединения, имеющие в своей структуре хиноидное кольцо, способны изменять протекание редокс-процессов в митохондриях, регулируя их функционирование. Целью работы было выявить механизмы действия хинонов на продукцию супероксидных анион-радикалов митохондриями клеток глиомы.

Генерацию $O_2^{\cdot-}$ митохондриями клеток глиомы крысы линии С6 регистрировали флуоресцентным методом с использованием флуоресцентного зонда mitoSOX (Invitrogen, Германия). Полученные результаты представлены в Таблице 1. Видно, что продукция $O_2^{\cdot-}$ в митохондриях повышается в 2,4 раза при действии 1,4-бензохинона (БХ), и, наоборот, снижается в 2,9, 1,9 и 1,4 раза при добавлении менадиона, 2,3,5-триметил-БХ (ТМБХ) и коэнзима Q_0 (CoQ_0), соответственно.

Для выявления механизмов действия хинонов был проведен ингибиторный анализ с использованием специфических ингибиторов различных участков электрон-транспортной цепи (ЭТЦ): комплекса I (ротенон), сукцинатдегидрогеназы (теноилтрифторацетон, ТТФА) и комплекса III (антимидин А), и ингибитора фермента двухэлектронного восстановления хинонов (дикумарол). Установлено, что БХ-усиленная продукция $O_2^{\cdot-}$ митохондриями незначительно снижается при ингибировании комплекса I и практически не зависит от ингибирования ЭТЦ в других сайтах. Известно, что БХ эффективно участвует в реакциях нуклеофильного присоединения, что приводит к частичному ингибированию комплекса I и истощению пула митохондриального GSH. Как следствие этого, концентрация АФК в митохондриях повышается.

Таблица 1 – Суммарный выход $O_2^{\cdot-}$ за 40 мин ($\Sigma_{40}O_2^{\cdot-}$) в присутствии 10 мкмоль/л хинонов при ингибировании различных участков ЭТЦ митохондрий и ДТ-диафоразы

$\Sigma_{40}O_2^{\cdot-}$, %							
<i>Ротенон</i>	–	+	–	+	–	+	–
<i>ТТФА</i>	–	–	+	+	–	–	–
<i>Антимицин А</i>	–	–	–	–	+	+	–
<i>Дикумарол</i>	–	–	–	–	–	–	+
ДМСО	100	95±3	81±5	88±6	150±18	113±15	103±13
БХ	236±62	187±33	271±50	282±51	252±40	219±35	455±100
ТМБХ	53±3	51±6	43±12	42±5	140±20	85±20	61±10
СоQ ₀	70±10	92±14	58±4	38±1	90±10	87±6	240±64
Менадион	35±15	51±12	21±6	30±8	43±10	26±14	187±55

Ингибиторный анализ показал, что механизмы снижения генерации $O_2^{\cdot-}$ при добавлении ТМБХ, менадиона и СоQ₀ различны. Выявлено, что ТМБХ-опосредованное снижение выхода митохондриальных $O_2^{\cdot-}$ не наблюдается при ингибировании комплекса III ЭТЦ (уровень генерации АФК остается таким же как в контрольном образце). Это свидетельствует о том, что ТМБХ ингибирует продукцию $O_2^{\cdot-}$ в комплексе III. СоQ₀-зависимое уменьшение продукции $O_2^{\cdot-}$ в митохондриях не наблюдается при действии ротенона, как при прямом (в отсутствие антимицина А), так и при обратном (при ингибировании комплекса III антимицином А) потоке электронов. Таким образом, СоQ₀ препятствует образованию $O_2^{\cdot-}$ в комплексе I ЭТЦ. Менадион приводит к снижению интенсивности свободно-радикальных процессов в митохондриях независимо от ингибирования различных сайтов ЭТЦ.

Установлено, что в присутствии дикумарола повышается продукция $O_2^{\cdot-}$ в митохондриях при действии БХ, СоQ₀ и менадиона, но не ТМБХ. Это свидетельствует о том, что двухэлектронное восстановление защищает клетки глиомы от хинониндуцированной генерации АФК в митохондриях. Снижение выхода $O_2^{\cdot-}$ при добавлении СоQ₀ и менадиона обусловлено антиоксидантным действием данных хинонов в восстановленной дигидроформе.

Таким образом, арилирующие хиноны (БХ) способны индуцировать окислительный стресс в митохондриях клеток глиомы, в то время как редокс-активные хиноны (ТМБХ, менадион и СоQ₀) в условиях эффективного внутриклеточного восстановления снижают продукцию $O_2^{\cdot-}$ в различных участках ЭТЦ.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕХАНИЗМОВ РЕДОКС-РЕГУЛЯЦИИ МИТОХОНДРИЙ НОРМАЛЬНЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Крылова Н.Г.¹, Чешевиц В.Т.², Головач Н.Г.², Кулагова Т.А.¹,
Заводник И.Б.²

¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

²Гродненский государственный университет им. Я. Купалы, Гродно, Беларусь

Митохондрии являются основными продуцентами внутриклеточных активных форм кислорода (АФК). Показано, что в опухолевых клетках количество образуемых митохондриями АФК значительно возрастает, что приводит к смещению редокс-баланса в опухолевых клетках. В настоящее время регуляция функционирования митохондрий, в том числе образования ими АФК, рассматривается как перспективный метод терапии опухолей. Однако механизмы, ответственные за изменение редокс-статуса митохондрий в опухолевых клетках, изучены не достаточно. Целью работы было проведение сравнительного анализа механизмов генерации супероксидных анион-радикалов митохондриями нормальных клеток печени крыс и митохондриями клеток глиомы.

Генерацию $O_2^{\cdot-}$ изолированными митохондриями печени крыс и митохондриями клеток глиомы крысы линии С6 регистрировали флуоресцентным методом с использованием зонда mitoSOX (*Invitrogen*, Германия). В условиях окисления митохондриями печени крыс субстратов комплекса I (5 ммоль/л глутамата и 2,5 ммоль/л малата (глу/мал)) продукция $O_2^{\cdot-}$ в 2,6 раза выше, чем при окислении сукцината (рисунок 1А). При ингибировании комплекса I ротеноном регистрируется снижение выхода $O_2^{\cdot-}$ на 66 % в митохондриях, окисляющих глу/мал. При этом воздействие ингибиторов комплексов II (теноилтрифторацетон, ТТФА) и III (антимицин А) не оказывало влияния на генерацию АФК митохондриями в нативном состоянии и при ингибировании комплекса I. На основании этих данных можно предположить, что основными сайтами генерации митохондриальных $O_2^{\cdot-}$ в условиях окисления глу/мал являются флаavin- и убихинон-связывающий сайты комплекса I электрон-транспортной цепи (ЭТЦ).

Митохондриальная продукция $O_2^{\cdot-}$ снижается на 29 % при ингибировании НАДН-хинон оксидоредуктазы (NQO1) дикумаролом. NQO1 поддерживает восстановленное состояние пула убихинона. При ингибировании NQO1 концентрация окисленного убихинона возрастает, что

увеличивает эффективность переноса электронов между комплексами I и III, и снижает утечку электронов на кислород.

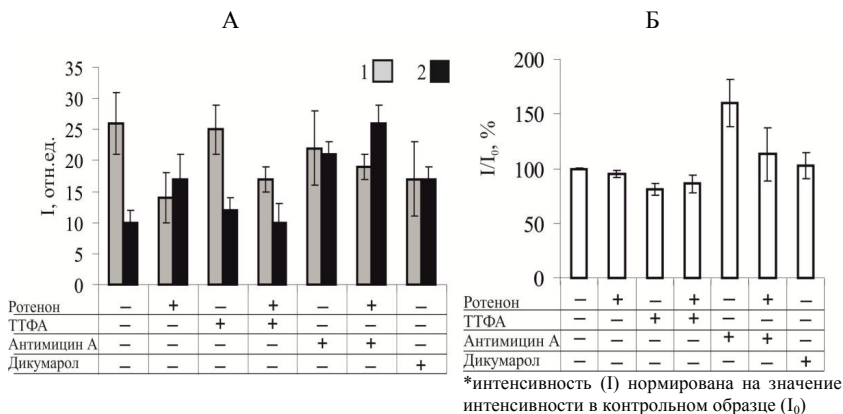


Рисунок 1 – Интенсивность флуоресценции зонда mitoSOX (I) через 40 мин инкубирования в суспензии митохондрий печени крыс (А) в условиях окисления глут/мал (1) и сукцината (2) и в клетках глиомы (Б) при ингибировании различных участков ЭТЦ

Для энергезированных сукцинатом митохондрий наблюдается усиление генерации $O_2^{\cdot-}$ при ингибировании Q_1 -сайта комплекса III антимицином А (на 130 %). Так как воздействие ротенона на фоне антимицина А не приводит к снижению продукции $O_2^{\cdot-}$ можно сделать вывод, что Q_0 -сайт комплекса III является основным местом образования $O_2^{\cdot-}$ при окислении сукцината. При добавлении ТТФА и дикумарола регистрируется повышение генерации АФК на 30 % и 85 %, соответственно, что обусловлено усилением обратного потока электронов и образованием $O_2^{\cdot-}$ в комплексе I. В клетках глиомы крысы линии С6 частичное ингибирование комплекса II ТТФА, наоборот, приводит к снижению продукции митохондриальных $O_2^{\cdot-}$. В то же время при действии антимицина А на клетки глиомы наблюдается усиление образования $O_2^{\cdot-}$ на 50 %, обусловленное обратным потоком электронов между комплексами III и I.

Сравнивая механизмы генерации $O_2^{\cdot-}$ митохондриями опухолевых клеток и митохондриями печени крыс, можно сделать вывод, что в митохондриях клеток глиомы эффективность обратного потока электронов в ЭТЦ значительно выше, чем в митохондриях клеток печени. Это может быть обусловлено более окисленным редокс-состоянием пула убихинона в митохондриях опухолевых клеток по сравнению с нормальными.

ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ И СИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ КОРИЧНОЙ КИСЛОТЫ НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ ЭТАНОЛА

Ксендзова Г.А.¹, Самович С.Н.¹, Сорокин В.Л.², Шадыро О.И.²

¹Учреждение БГУ «Научно-исследовательский институт
физико-химических проблем», Минск, Беларусь

²Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Производные коричной кислоты (ПКК) являются природными антиоксидантами и проявляют разнообразную фармакологическую активность (противовирусную, противовоспалительную, противораковую, цито- и гепатопротекторную). Антиоксидантную активность ПКК связывают с их способностью эффективно хелатировать ионы переходных металлов, тем самым предотвращая образование реакционноспособных гидроксильных радикалов. В тоже время сведения о влиянии ПКК на свободнорадикальные процессы, протекающие с участием кислород- и углеродцентрированных органических радикалов, весьма ограничены. На наш взгляд, получение такой информации необходимо для лучшего понимания молекулярных механизмов, ответственных за проявление фармакологической активности производных коричной кислоты. В данной работе методом стационарного радиолиза изучено влияние коричной кислоты и её производных на выходы основных молекулярных продуктов γ -радиолиза азириванного и деазириванного этанола, что позволяет оценить реакционную способность тестируемых соединений в отношении пероксильных и α -гидроксиалкильных радикалов. Структурные формулы изученных соединений представлены на рис. 1.

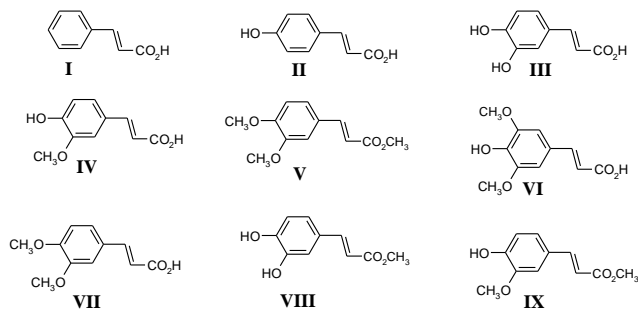
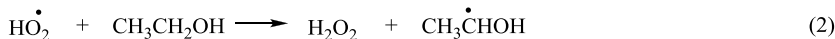
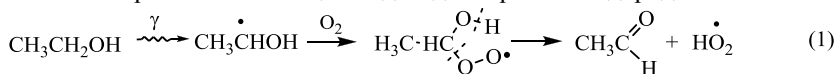


Рисунок 1 – Структурные формулы природных и синтетических производных коричной кислоты

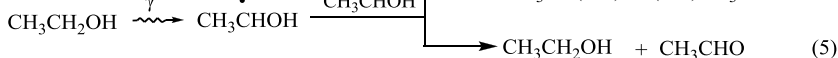
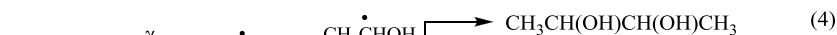
Реакции свободнорадикальных превращений этанола инициировали γ -излучением изотопа ^{60}Co на установке МРХ- γ -25М. Количественный анализ осуществляли методами газожидкостной хроматографии и спектрофотометрии. Радиационно-химические выходы образования продуктов радиолиза этанола (ацетальдегида, H_2O_2 и 2,3-бутандиола) рассчитывали на линейных участках зависимостей их концентраций от поглощенной дозы.

Основными продуктами радиационно-химического окисления этилового спирта являются ацетальдегид и перекись водорода:



При γ -радиолизе азрированного этанола ПКК не оказывали заметного ингибиторного влияния на процессы окисления этанола, что указывает на слабую активность исследованных ПКК в отношении пероксильных радикалов.

Радиолиз этанола в деаэрированных условиях сопровождается накоплением ацетальдегида и 2,3-бутандиола в соответствии со следующей схемой:



Установлено, что коричная кислота (**I**) и её производные (**II** – **IX**), в 8-14 раз подавляют образование продукта рекомбинации α -гидроксиэтильных радикалов. Такой эффект может быть связан с реализацией процесса присоединения $\text{CH}_3\dot{\text{C}}\text{HON}$ радикалов по двойной углерод-углеродной связи исходных веществ. Действительно, методом GS-MS среди конечных продуктов нами были идентифицированы вещества с большими молекулярными массами, чем у исходных соединений.

Изучена эффективность влияния ПКК в зависимости от их структуры на радиационно-химические превращения этанола. Показано, что ПКК эффективно взаимодействуют с α -гидроксиалкильными радикалами, причём реакционная способность не зависит от степени гидроксирования и метоксилирования молекулы коричной кислоты, а обусловлена наличием двойной углерод-углеродной связи.

АССОЦИАЦИЯ КАТИОН-РАДИКАЛОВ ПОРФИРИНОВ С АНИОНАМИ ХЛОРА

Кузовков П.В., Шадыро О.И.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

В данной работе приведены результаты исследования методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) ассоциации катион-радикалов порфиринов с анионами хлора.

Показано, что электрохимическое генерирование π -катион-радикалов металлокоплексов ряда порфиринов в CH_2Cl_2 с использованием в качестве фонового электролита $(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{NCl}$ приводит к спектрам ЭПР со сверхтонкой структурой.

Анализ сверхтонких структур показывает, что в спектрах ЭПР, наряду со сверхтонким взаимодействием неспаренного электрона с определенными магнитными центрами порфиринового макроцикла, проявляется дополнительное взаимодействие с ядром аниона хлора. Проявление в спектрах ЭПР дополнительной структуры дает основание считать, что монокатионы порфиринов в определенных условиях образуют ассоциаты с анионами хлора.

На примере монокатионов цинкового комплекса тетрафенилпорфина исследовано влияние природы растворителя на эффект образования ассоциатов. Показано, что в случае использования в качестве растворителя CH_2Cl_2 , $\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$, CH_3CN , $(\text{CH}_3)_2\text{NCOOH}$ в спектрах ЭПР проявляется дополнительная структура, в случае же метанола эта структура отсутствует. Проявление дополнительной структуры в таких растворителях, как хлористый метилен и диметилформамид указывает на то, что образование ассоциатов происходит в растворителях с существенно отличающимися величинами диэлектрической постоянной. Отсутствие дополнительной структуры и, следовательно, ассоциатов при использовании метанола дает основание считать, что условие образования ассоциатов определяется не величиной диэлектрической постоянной растворителя, а, в первую очередь, специфической сольватирующей способностью растворителя по отношению к ионным формам.

СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ ДЕСТРУКЦИИ ФОСФАТИДИЛЭТАНОЛАМИНА И СФИНГОЗИН-1-ФОСФАТА

Кулинкина А.Н., Лисовская А.Г., Прокашева В.А., Шадыро О.И.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Свободные радикалы играют важную роль в регулировании ряда клеточных процессов, а также являются причиной возникновения большого количества заболеваний. Этим объясняется важность установления механизмов свободнорадикальных превращений липидов биомембран с целью регулирования данных процессов. Свободнорадикальные превращения биомолекул могут инициироваться γ -радиацией, УФ-светом, а также эндогенными факторами, приводящими к гиперпродукции активных форм кислорода, азота или хлора. Так, хлорирующий агент, такой как хлорноватистая кислота (HOCl), можно рассматривать в качестве активных форм хлора. Известно, что в организме HOCl образуется в результате двухэлектронного окисления хлорида по реакции, которая катализируется миелопероксидазой (МПО) в галогенирующем цикле из хлорид-ионов и пероксида водорода [1].

Ранее [2-4] было показано, что одним из основных продуктов радиационно-, фото- и HOCl-индуцированной деструкции сфинголипидов является биологически активный 2-гексадеценаль, способный вызывать реорганизацию клеточного цитоскелета и индуцировать апоптоз, а также образовывать аддукты с ДНК, которые могут вызывать мутагенные последствия [5,6].

В настоящей работе исследованы свободнорадикальные превращения фосфатидилэтанолamina (дипальмитоилфосфатидил этаноламина, ФЭ) и сфингозин-1-фосфата (С1Ф) при действии γ -излучения и HOCl.

Показано, что при взаимодействии ФЭ и С1Ф в водных деаэрированных дисперсиях с раствором гипохлорита натрия происходит образование неустойчивых хлорпроизводных с дальнейшей их С-С деструкцией через стадию образования азотцентрированных радикалов.

N-хлорпроизводные и продукты деструкции ФЭ и С1Ф определяли методом масс-спектрометрии с ионизацией распыления в электрическом поле (ESI-MS) в режиме положительной ионизации. Масс-спектры продуктов взаимодействия соответствовали моно- и дихлорпроизводным ФЭ ($[M + Na]^+ = m/z$ 749 и m/z 784) и С1Ф ($[M + Na]^+ = m/z$ 435 и m/z 469).

В работе установлено, что *N*-хлорпроизводные ФЭ и С1Ф являются короткоживущими и быстро распадаются, давая продукты С-С деструкции. Среди основных продуктов деструкции С1Ф были зафиксиро-

рованы 2-гексадеценаль и 2-гидрокси-3-гептадеценаль. Данные альдегиды образуются в результате фрагментации азотцентрированных радикалов С1Ф с разрывом C_3-C_2 - и C_2-C_1 -связей соответственно. В случае ФЭ среди продуктов было зафиксировано образование метилового эфира фосфатидной кислоты, который является продуктом β -фрагментации азотцентрированного радикала с разрывом С-С связей аминоктанольного фрагмента.

В ходе работы были также изучены свободнорадикальные превращения ФЭ и С1Ф при действии γ -излучения на их водные дисперсии. Установлено, что радиоллиз данных липидов не дает соответствующих продуктов их С-С деструкции. Следовательно, можно сделать вывод, что наличие фосфатной группы у С1Ф и аминоктанольного фрагмента в молекуле ФЭ препятствует их С-С-деструкции при действии ОН-радикалов. В то же время при взаимодействии с гипохлоритом натрия происходит хлорирование липидов по NH_2 -группе с последующим образованием азотцентрированных радикалов, которые далее распадаются с образованием продуктов С-С деструкции исходных липидов.

Литература:

1. Spickett C.M et al. The reactions of hypochlorous acid, the reactive oxygen species produced by myeloperoxidase, with lipids // *Acta Biochimica Polonica*. -2000. -N4. - P.889-899.
2. Lisovskaya A., Edimecheva I., Shadyro O. New Mechanism for Photo- and Radiation-Induced Decomposition of Sphingolipids // *Lipids*. - 2011. - Vol. 46. - P. 271-276.
3. Lisovskaya A., Shadyro O., Edimecheva I. A Novel Pathway of Photo-induced Decomposition of Sphingolipids // *Photochem. Photobiol.* - 2012. - Vol. 88. - P. 899-903.
4. Shadyro O., Lisovskaya A., Semenkova G., Edimecheva I., Amaegberi N. Free-radical Destruction of Sphingolipids Resulting in 2-hexadecenal Formation // *Lipid insights*. - 2015. - Vol. 8. - P. 1-9.
5. Kumar A., Byun H., Bittman R., Saba J.D. The sphingolipid degradation product trans-2-hexadecenal induces cytoskeletal reorganization and apoptosis in a JNK-dependent manner // *Cellular Signaling*. -2011. -Vol.23. -P.1144-1152.
6. Upadhyaya P, et al. The sphingolipid degradation product trans-2-hexadecenal forms adducts with DNA // *BBRC*. - 2012. - Vol. 424. - P. 18-21.

О ВОЗМОЖНОСТИ ВЛИЯНИЯ АЛЮМИНИЯ НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ЭРИТРОЦИТАХ БЕРЕМЕННЫХ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

Лукияненко Л.М.¹, Скоробогатова А.С.¹, Касько Л.П.²

¹ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»

²ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»,
Минск, Беларусь

Метаболический синдром (МС), сопровождающийся комплексом нарушений обмена веществ и включающий в себя абдоминальное ожирение, дислипидемию, инсулинорезистентность и гипертонию, приобретает в настоящее время статус социально значимого заболевания в связи с риском развития атеросклеротических сосудистых заболеваний, которые, по оценкам ВОЗ, занимают первое место среди причин смертности населения индустриально развитых стран [1]. Особое значение имеет проблема профилактики МС у беременных женщин, поскольку во многих исследованиях показано, что метаболические нарушения у матери являются причиной высокого риска развития МС у ребенка [2]. В настоящее время зарубежные и отечественные исследователи уделяют особую роль дисбалансу элементов в возникновении и прогрессировании МС [3]. Имеются литературные данные, где предполагается, что дисбаланс внутриклеточных микроэлементов выступает важным патогенетическим звеном в развитии МС [3].

Цель данной работы является выявление различий в составе микроэлементов в эритроцитах крови женщин с риском развития метаболического синдрома, и выяснение возможного их участия в окислительных процессах клеток крови.

Нами методом атомно-эмиссионной спектроскопии обнаружено, что в эритроцитах беременных женщин с симптомами МС: гестозом, артериальной гипертензией (АГ), гестозным сахарным диабетом (ГСД) и ожирением I степени повышено содержание концентрации железа, алюминия и лития по сравнению с группой здоровых женщин детородного возраста и здоровых беременных женщин. Известно, что алюминий, нарушая гомеостаз таких эссенциальных элементов как кальций, магний и, что более важно, железо, может вызывать окислительный стресс в клетках крови. Так, установлено, что алюминий способствует развитию железо-зависимому и железо-независимому процессу перекисного окисления липидов, вызванному высвобождением свободных ионов железа, которые участвуют в реакциях Фентона [4]. В модельных системах ионы

алюминия усиливают развитие окислительного стресса в клетках мозга крыс, вызванного железом и другими металлами [5, 6].

Нами было предположено, что накопление в клетках крови алюминия может стимулировать окислительные процессы, нарушая баланс «антиоксиданты/прооксиданты». С помощью флуоресцентного зонда 5-(6)-хлорметил-2',7'-дихлордигидрофлуоресцеин диацетата (CM-H2DCFDA) было изучено изменение уровня генерации АФК в эритроцитах, подвергшихся *in vitro* воздействию 20,25 – 40,5 мг/л хлорида алюминия. Обнаружено, что в используемых концентрациях хлорид алюминия вызывает увеличение интенсивности флуоресценции зонда в эритроцитах в течение первых 20 мин на 50-80% по сравнению с контролем. Полученные данные свидетельствуют о том, что ионы алюминия в субгемолитических концентрациях при воздействии на эритроциты приводят к усилению свободнорадикальных процессов, что может вызывать повреждение различных компонентов клетки и нарушать их функционирование. Для выяснения вопроса, связано ли это с функционированием ферментов антиоксидантной системы защиты в эритроцитах, подвергшихся воздействию $AlCl_3$, были изучены активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и глутатионпероксидазы до и после инкубации их в среде, содержащей хлорид алюминия. В эритроцитах, подвергшихся воздействию 27 мг/л хлорида алюминия, обнаружено снижение активности каталазы на 35%, активности СОД - на 5% и глутатионпероксидазы - на 15% по сравнению с контролем.

Полученные результаты позволяют заключить, что повышение уровня ионов алюминия в эритроцитах периферической крови женщин с риском развития метаболического синдрома, может оказывать токсическое действие на клетки крови, проявляющееся в генерации активных форм кислорода и снижении активности ферментов антиоксидантной защиты.

Литература:

1. Aldons J.L., Alan A.D., Reue K. // *Nature reviews*. 2008. – V.9. – P. 819-830.
2. C. Napoli, F.P.D'Armiento, F.P. Mancini, A. Postiglione, J.L. Witztum, G. Palumbo, and W. Palinski. // *J. Clin. Invest.* 1997. – V. 100. – P. 2680–2690.
3. Chaudhary D.P., Sharma R., Bansal D.D. // *Biol. Trace Elem. Res.* 2010. – V. 134. – P. 119-129.
4. Prousek J. // *Pure Appl. Chem.*, 2007. – Vol. 79. – P. 2325–2338.
5. Y. Kim // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2007. – Vol. 220. – P. 349-356.
6. S. Mousavi, M. Mojtahedzadeh, M. Abdollahi. // *Int. J. Pharmacol.* 2010. – Vol. 6. – P. 397-408.

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЙ КОМПОНЕНТ *NIGELLA SATIVA* ТИМОХИНОН ИНДУЦИРУЕТ ГИБЕЛЬ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ЧЕРЕЗ МИТОХОНДРИАЛЬНО-ОПОСРЕДОВАННЫЙ ПУТЬ

Мартинович Г.Г.¹, Мартинович И.В.¹, Вчерашняя А.В.¹, Шадыро О.И.², Черенкевич С.Н.¹

¹Кафедра биофизики Белорусского государственного университета

²Кафедра радиационной химии и химико-фармацевтических технологий
Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь

Поиск и разработка эффективных средств и технологий регуляции биологических электрон-транспортных процессов является актуальной задачей современной медицинской биофизики. Эффективными регуляторами электрон-транспортных процессов в живых системах являются *пара*-бензохиноны и их производные. Ряд природных и синтетических *пара*-бензохинонов проявляют противовирусную, противовоспалительную и противоопухолевую активность. К таким высокоэффективным биорегуляторам относится тимохинон (2-изо-пропил-5-метил-1,4-бензохинон), основной компонент эфирного и нелетучего масла черного тмина (*Nigella sativa*), проявляющий высокую противоопухолевую активность. Однако механизмы действия хинона в биологических системах, определяющие его противоопухолевый эффект, остаются не изученными. В данной работе нами исследовано влияние тимохинона на пролиферативную активность опухолевых клеток и роль редокс-зависимых сигнальных механизмов в реализации отклика опухолевых клеток на его действие.

В работе использовали клетки карциномы гортани человека линии НЕР-2. Оценку внутриклеточной продукции активных форм кислорода (АФК) проводили на основе анализа скорости окисления флуоресцентного зонда карбоксиметил-2',7'-дихлордигидрофлуоресцеина (СМ-Н₂DCF) эндогенными окислителями. Мониторинг изменений митохондриального мембранного потенциала проводили с использованием этилового эфира тетраметилпродамина (ТМРЕ).

В результате исследования установлено, что при введении тимохинона в культуру клеток линии НЕР-2 дозозависимо угнетается их рост (рис. 1а). При действии хинона в клетках наблюдается кратковременное усиление внутриклеточной продукции АФК. Затем продукция АФК в клетках снижается (рис. 1б). Величина скорости окисления СМ-Н₂DCF на первой стадии при действии тимохинона не изменяется при увеличении концентрации агента. С другой стороны, при росте концентрации

тимохинона снижение внутриклеточной продукции АФК, индуцируемое агентом, увеличивается.

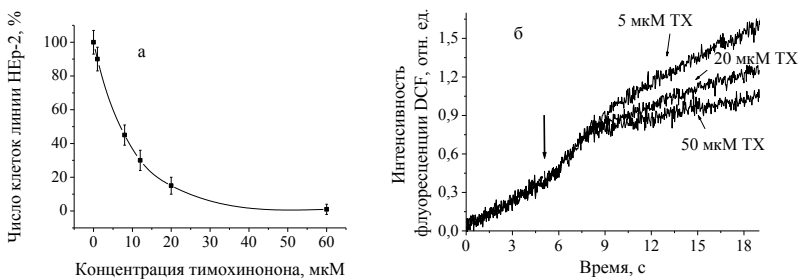


Рисунок 1 – Влияние тимохинона (TX) на рост клеток (а) и продукцию внутриклеточных АФК (б)

Ранее нами было показано, что эндогенная продукция АФК в клетках карциномы гортани человека осуществляется с участием митохондриальных оксидоредуктаз и НАДФН-оксидазы. В данной работе обнаружено, что уменьшение продукции АФК при действии тимохинона в клетках сопровождается снижением митохондриального мембранного потенциала, что указывает на участие агента в регуляции продукции АФК в митохондриях. Нами также показано, что ингибитор открытия пор высокой проводимости циклоспорин А блокирует токсическое действие хинона. По-видимому, тимохинон в результате окисления сульфгидрильных групп адениннуклеотидного транспортера индуцирует открытие пор высокой проводимости и запуск программы митохондриально-опосредованного апоптоза. Открытие пор высокой проводимости, в свою очередь, приводит к снижению митохондриального мембранного потенциала, что вызывает уменьшение продукции АФК в клетках.

Таким образом, при действии тимохинона в опухолевых клетках в результате локального повышения продукции АФК наблюдается индукция митохондриально-опосредованного пути гибели клеток, что делает перспективным дальнейшее исследование тимохинона в качестве противоопухолевого препарата.

МЕМБРАНОТРОПНЫЙ И ПРООКСИДАНТНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ПРОСТРАНСТВЕННО ЭКРАНИРОВАННЫХ ФЕНОЛОВ

Медведский И.Н.

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

Пространственно экранированные фенолы включают соединения, в бензольное кольцо которых включены объемные алкильные заместители, экранирующие ОН-группы. Такие структурные модификации приводят к повышению липофильности производных, пролонгируя их взаимодействие со структурными элементами биологических мембран. Экранированные фенолы обладают рядом фармакологических эффектов, включая противовирусный, ноотропный и противоопухолевый, механизмы которых мало изучены и требуют объяснения. В этой связи представляет интерес разностороннее изучение их мембранотропных свойств. Простым и информативным тестом для оценки мембранотропных свойств соединений является испытание гемолитической активности *in vitro*.

Цель работы: оценить мембранотропный потенциал и прооксидантное действие пространственно экранированных фенолов (соединения BN-07, BN-02, BO-01, BO-03 и BS-08) в эритроцитарной суспензии и цельной крови.

Материалы и методы. В работе использовали 4-*трет*-бутилпирокатехин (соединение BO-03), 3,5-ди-*трет*-бутилпирокатехин (соединение BO-01), 3-(2-гидроксиэтилтио)-4,6-ди-*трет*-бутилпирокатехин (соединение BS-08), N-(3,5-ди-*трет*-бутил-2-гидроксифенил)-ацетамид (соединение BN-02), 4,6-ди-*трет*-бутил- 2-фенил-аминофенол (соединение BN-07), предоставленные кафедрой радиационной химии и химико-фармацевтических технологий БГУ. Гемолитическое действие экранированных фенолов изучали в цельной крови (ЦК) и эритроцитарной суспензии (ЭС; $4,8 \cdot 10^7/\text{мл}$) крыс-самцов линии Вистар. Пробы инкубировали 60 мин (ЭС) и 120 мин (ЦК) при 37°C. После центрифугирования, гемолиз определяли фотоколориметрическим методом при $\lambda=540$ нм (ЭС) и энзиматическим методом по высвобождению лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в плазму крови (ЦК). Значения эффективных гемолитических концентраций (HC_{50}) рассчитывали методом регрессионного анализа. Прооксидантное действие оценивали по активности глутатион-S-трансферазы (ГТр), глутатионредуктазы (ГР) и содержанию свободных тиолов (СТ) в эритроцитах.

Результаты и их обсуждение. В ЭС высоколипофильные экранированные фенолы (соединения BN-07, BS-08, BO-01 и BN-02), содержащие

по 2 *трет*-бутильных заместителя оказывали выраженное гемолитическое действие, их HC_{50} составили 23, 25, 59 и 174 мкмоль/л, соответственно. Водорастворимое соединение ВО-03, содержащее 1 *трет*-бутильный заместитель, оказывало слабое гемолитическое действие ($HC_{50}=1514$ мкмоль/л).

В ЦК экранированные фенолы не оказывали прооксидантное действие в диапазоне концентраций от 10^{-8} до 10^{-4} моль/л (активности ГТр, ГР и концентрации СТ эритроцитов не изменялась). Активность ЛДГ плазмы не отличалась от контрольных значений. Отсутствие гемолитической активности у экранированных фенолов в ЦК может объясняться высокой степенью связывания с белками плазмы крови, а также распределением соединений в большем объеме мембран в ЦК по сравнению с ЭС, что приводит к эффекту разведения.

Таким образом, было установлено, что высоколипофильные экранированные фенолы (соединения BN-07, BS-08, BO-01 и BN-02) обладают выраженной мембранотропностью, значение которой для реализации их фармакологических эффектов требует дальнейшего изучения.

ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОЛОГИИ ТИМОЦИТОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА, ВЫЗВАННОГО ФАКТОРАМИ РАЗНОЙ ПРИРОДЫ

Никитина И.А., Стародубцева М.Н., Грицук А.И.

Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

Вилочковая железа (тимус) играет важную роль в формировании Т-клеточной системы иммунитета и развитии возрастной иммунодепрессии. Тимоциты очень чувствительны к окислительному стрессу, вызываемому действием на организм неблагоприятных факторов окружающей среды, включая ионизирующее излучение (ИИ) [1], ведущим патогенетическим механизмом действия которого является усиление продукции в клетках вторичных мессенджеров – активных форм кислорода и азота (АФК и АФА) [2]. Увеличение экспрессии индуцибельной NO-синтазы при действии ИИ повышает уровень NO^{\bullet} и $ONOO^{-}$ (пероксинитрита), образующегося при взаимодействии NO^{\bullet} с $O_2^{\bullet -}$. $ONOO^{-}$, образующийся в стромальных клетках тимуса, принимает участие в процессах морфогенеза и негативной селекции тимоцитов.

Цель исследования – оценить влияние ИИ и пероксинитрита на морфологию тимоцитов крыс методом атомно-силовой микроскопии.

Методы исследования. Опытных животных (белых беспородных крыс) подвергали однократному общему γ -облучению на установке «ИГУР-1», источник ^{137}Cs , доза 1 Гр, мощность дозы 0,92 Гр/мин. Тимоциты выделяли из тимуса крыс и инкубировали с 300 мкМ ONOO⁻ *in vitro*. Исследование морфологии клеток проводили с помощью атомно-силового микроскопа «НТ-206» («МикроТестМашины», Беларусь). Полученные данные обрабатывали с помощью программ: SurfaceExplorer («МикроТестМашины», Беларусь) и ImageJ. Определяли: диаметр, высоту (H), объем (V), площадь свободной поверхности ($S_{\text{нп}}$) тимоцитов опытных и контрольных животных.

Результаты исследования и их обсуждение. Действие пероксинитрита в концентрации 300 мкМ на тимоциты *in vitro*, как и облучение всего организма животного ИИ в дозе 1 Гр (3-е сутки после облучения) приводит к существенному изменению морфологических показателей адгезированных к стеклянным пластинкам тимоцитов. В частности, после обработки изолированных тимоцитов пероксинитритом их объем уменьшается на 37%, высота – на 9%, а площадь свободной, не контактирующей с подложкой, поверхности – почти на 30%.

На 3-сутки после γ -облучения животных в дозе 1 Гр высота клеток уменьшается примерно в три раза, объем – в четыре раза, а площадь свободной поверхности клеток – в два раза. Диаметр тимоцитов остается неизменным как при действии 300 мкМ пероксинитрита, так и при облучении ИИ в дозе 1 Гр на 3-е сутки.

Таблица – Морфологические характеристики тимоцитов крысы (режим сканирования – топография, n=8–13)

Параметры	Пероксинитрит		Ионизирующее излучение	
	Контроль	300 мкМ	Контроль	3-е сутки после облучения
H, мкм	<u>2.66</u> (2,53-2,67)	<u>2.43*</u> (2,17-2,48)	<u>2.53</u> (2,32-2,66)	<u>0.78**</u> (0,62-1,24)
Диаметр, мкм	<u>6.75</u> (5,88-6,84)	<u>5.60</u> (5,05-6,80)	<u>6.87</u> (6,31-7,63)	<u>6.36</u> (4,92-7,49)
V, мкм ³	<u>59.84</u> (49,52-67,34)	<u>38.02*</u> (32,41-53,20)	<u>59.77</u> (49,85-73,09)	<u>13.03**</u> (8,39-23,90)
$S_{\text{нп}}$, мкм ²	<u>56.43</u> (52,50-60,97)	<u>40.18*</u> (33,24-52,29)	<u>58.10</u> (53, 91-72,80)	<u>35.79**</u> (23,19-,18)*

Примечание: Данные представлены в формате медиана (над чертой), нижний квартиль – верхний квартиль (под чертой); * – Различия статистически значимы в сравнении с соответствующим параметром в контроле, критерий Манна – Уитни ($p < 0,05$)

Заключение. Изменение морфологических параметров тимоцитов крыс спустя 3 суток после острого γ -облучения в дозе 1 Гр имеет сходные черты с изменением, имеющим место после обработки изолированных тимоцитов пероксинитритом в концентрации 300 мкМ: уменьшается объем клеток, их высота и площадь поверхности. Этот факт может указывать на общие механизмы действия ИИ и пероксинитрита на клетки тимуса.

Литература:

1. Кишко, Т.О. Об участии оксида азота и супероксида в апоптозе тимоцитов, вызванном папаверином и нитропруссидом натрия /Т.О. Кишко, С.Г. Шандренко, Н.П. Дмитренко // Современные проблемы токсикологии. – 2001. -№ 1.-С. 26–31.
2. Leach J.K. Ionizing radiation-induced, mitochondria-dependent generation of reactive oxygen/nitrogen. / J.K. Leach // Cancer research. –2001. – №61(10). – P. 3894-901.

ВЛИЯНИЕ МАЛЫХ МОЛЕКУЛ НА УСТОЙЧИВОСТЬ КЛЕТОК К ОКИСЛИТЕЛЬНОМУ СТРЕССУ ЧЕРЕЗ СВЯЗЫВАНИЕ С ГЛИЦЕРАЛЬДЕГИД-3-ФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗОЙ

Никотина А.Д.^{1,2}, Лазарев В.Ф.², Гужова И.В.², Маргулис Б.А.²

¹Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Россия

²ФБГУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

Окислительный стресс вовлечен в большое количество патологических состояний человека. Наибольшее разрушительное действие активные формы кислорода оказывают на нервную систему из-за невозможности восстановления погибших нейронов. Окислительный стресс лежит в основе многих нейродегенеративных заболеваний, а так же сопровождается воспалительными процессами и различными травмами мозга. Подробное изучение молекулярных механизмов воздействия активных форм кислорода на клетку позволит найти мишени для терапевтического вмешательства.

По литературным данным фермент глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (ГАФДГ) является сенсором окислительного стресса. Данный фермент относится к классу оксидоредуктаз и в своей нативной конформации имеет тетрамерную структуру. Окисление ГАФДГ приводит к денатурации белка до мономеров и димеров, которые впоследствии могут образовывать агрегаты, транслоцироваться в ядро с помощью Е3-убиквитинлигазы Siah1 и участвовать в процессе апоптоза. Мы предположили, что использование малых молекул, способных связываться с ГАФДГ, может стабилизировать фермент, предотвратить аг-

регатообразование и взаимодействие с Siah-1, тем самым увеличивая выживаемость клеток.

Целью нашей работы был скрининг коллекции веществ растительного происхождения способных влиять на агрегацию ГАФДГ и индукцию апоптоза при окислительном стрессе.

Окислительный стресс моделировали с помощью введения 3мМ перекиси водорода, в культуру клеток нейробластомы человека и введением малоната натрия в оба стриатума крыс Вистар массой 200-250 гр. Отбор препаратов проводили в системе чистых белков. Очищенный ГАФДГ инкубировали с H_2O_2 в присутствии или отсутствии кандидатных веществ растительного происхождения (коллекция получена из БИН РАН). Агрегацию ГАФДГ оценивали с помощью метода ультрафильтрации. В процессе первичного скрининга нам удалось отобрать 7 веществ, достоверно подавляющих агрегацию ГАФДГ. При дальнейшем скрининге с использованием клеток нейробластомы человека в условиях окислительного стресса осталось 2 вещества из 7, которые достоверно подавляли агрегацию ГАФДГ и способствовали выживанию клеток. Тестирование выявленных препаратов в модели окислительного стресса у крыс при пероральном введении водного раствора в течение месяца после операции, показало, что в тесте «сужающаяся дорожка», координация движения у животных, принимающих препараты не отличалось от таковой у ложно-оперированных крыс, в то время как у животных, не проходивших лечения, наблюдались значительные нарушения координации задних лап. Изучаемые препараты не оказывали токсичного действия на животных и переносились ими хорошо.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ НА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ РАБОТНИКОВ В ПЕРИОД ИХ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Новикова Л.С., Беляева Г.В.

*ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет»
Минздрава России*

Фармацевтические работники занимаются различными видами деятельности, на формирование которых на протяжении всего развития человечества оказывали влияние факторы: политический строй, социально-экономические и классовые отношения, национальные традиции, религиозные взгляды, предрассудки и другие. Одной из основных проблем деятельности фармацевтических работников в области фармации являет-

ся их профессиональный долг, определяющий необходимые аспекты поведения и выполнения должностных обязанностей.

Целью работы является изучение особенностей и факторов, влияющих на профессиональную деятельность фармацевтических работников, на основе литературных сведений и собственных исследований.

В настоящее время в связи с проведением реформ в России изменились и повысились требования к фармацевтическим специалистам, отличающиеся от отношений фармацевт – пациент. Область профессиональной деятельности специалистов представляет, в основном, различные виды практической фармации: производственная и организационно-управленческая; в области контрольно-разрешительной системы; научно-исследовательская и информационно-просветительская; оказание первой доврачебной помощи больным и пострадавшим в экстремальных ситуациях; реализация лекарственных средств и ИМН и другие. В соответствии с Федеральным государственным стандартом ВПО по специальности Фармация 060108 специалисты должны: соблюдать основные нормы и принципы в отношении с больными; способствовать уверенности в лечении и выздоровлении пациента; не допускать ошибок общения; соблюдать врачебную тайну; качественно и квалифицированно обслуживать посетителей аптеки и, при необходимости, оказывать первую медицинскую помощь; исключать ошибки в своей работе; критически оценивать рекламные сообщения о препаратах; предупреждать о бдительности при сенсационной рекламе, особенно по радио и телевидению и т.д.

Однако следует отметить, что при выполнении профессиональной деятельности на фармацевтических работников оказывают влияние различные факторы психофизиологической, физико-химической и биологической природы. Для производственной сферы фармацевтических предприятий характерны следующие вредоносные факторы:

- физические – энерговооруженность, механические, микроклиматические, термические и вибрационные воздействия, твердые аэрозоли (пыль), освещение, проблемы химической безопасности;

- химические – в основном это лекарственные препараты с агрессивными свойствами;

- физико-химические – пахучие, летучие, пылящие и пачкающие вещества, сильные окислители, едкие средства для ингаляционного наркоза; дезинфицирующие средства, сильные кислоты и щелочи, химические реактивы; химико-фармакологические – ядовитые, наркотические, психотропные, сильнодействующие, раздражающие и sensibilizing вещества разных фармакологических групп; биологические – микроорганизмы-продуценты, живые клетки и споры, содержащиеся в био-

препаратах, патогенные вирусы, микроорганизмы-возбудители и переносчики возбудителей инфекционных болезней. При выполнении функциональных обязанностей фармацевтические работники испытывают статические и динамические перегрузки, гиподинамию, умственное перенапряжение, перенапряжение анализаторов, монотонность труда, эмоциональные перегрузки при общении с пациентами, коллегами и руководителями. Нарушение правил работы нередко вызывает у фармацевтических работников развитие патологических состояний и даже профессиональные болезни. Поэтому, исходя из гигиенических критериев, условия труда у фармацевтических работников должны быть оптимальными, при которых сохраняется здоровье и создаются предпосылки для поддержания высокого уровня работоспособности. Перечисленные вредные и опасные факторы производственной среды фармацевтических организаций могут приводить к возникновению профессиональной патологии.

Таким образом, следует отметить, что знание вредных и опасных факторов производственной среды фармацевтических организаций, и факторов риска развития профессиональных патологий позволяют проводить предупредительные мероприятия, снижающие уровень профессиональных заболеваний.

РАСШИРЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОЛЛАГЕНА В КАЧЕСТВЕ ВСПОМОГАТЕЛЬНОГО ВЕЩЕСТВА

Новикова Л.С., Шорманов В.К., Беляева Г.В., Парахина О.В.,
Беляева Т.В.

*ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет»
Минздрава России*

Из органических веществ, входящих в состав растений и живых организмов, главными в биологическом отношении являются белковые вещества или белки, по сведениям В.Г.Щербакова, 2009, выполняющие большую часть биологических функций или при их участии.

Белки - полимеры, построенные из α - аминокислот, остатки которых соединены амидными или пептидными связями и называемые полипептидными. В их состав входит множество аминокислот, отличающихся строением радикала R. В природе известно свыше 30 аминокислот, но белки состоят, в основном, из 20. Одна из кислот - пролин, является не амино -, а имино - кислотой, образуется в результате химических превращений в составе белковой молекулы. Аминокислотные остатки пролина могут модифицировать и превращаться в гидроксипро-

лин. Это превращение происходит при образовании важного белкового компонента соединительной ткани – коллаген, по результатам исследований Л.С.Новиковой, 2014.

Целью работы является разработка промышленного способа получения геля коллагена в качестве вспомогательного вещества.

Коллаген является фибриллярным белком, участвует в транспорте веществ и в проведении биохимических реакций в организме. Элементарный состав белков включает углерод, кислород, водород, азот, иногда серу или селен, а также железо, медь, цинк, фосфор и некоторые другие элементы, как представлено в работах [Д.Г. Кнорре и С.Д. Мызина, 1998]. Первичная структура известных белков обеспечивает исключительную стабильность, которая и определяет особенности функционирования данного белка. Коллаген – природный полимер, применяют как вспомогательное вещество, получают его из отходов кожевенной промышленности для медицинского применения и для разработки ряда лекарственных средств, отмечено в работах [Л.С. Новиковой и Г.В. Беляевой, 2014].

Нами получен гель коллагена из отходов спилка шкур крупного рогатого скота, который по внешнему виду представлял собой студнеобразную прозрачную однородную массу без посторонних включений, без запаха или со слабым запахом кислоты уксусной [Г.В.Беляева, Л.С. Новикова, 2012]. Его анализировали свежеприготовленный и в процессе хранения по следующим показателям: растворение и значение рН растворов, их вязкость, органолептический контроль (отсутствие постороннего запаха, изменение цвета), качественный и количественный состав (аминокислотный состав, содержание белка по оксипролину). Гель коллагена по всем показателям удовлетворял требованиям ВФС 42-1468-84, содержание белка – 92,72%. Периодический контроль коллагена, хранившегося при комнатной температуре в течение пяти лет, показал его стабильность по результатам исследований Г.В.Беляевой, 2013 .

Проведенные физико-химические и фармакологические исследования позволили использовать гель коллагена, как вспомогательное вещество для пролонгирования действия лекарственных веществ, в различных лекарственных формах: линиментах, офтальмологических препаратах и др. Препараты готовили по общим правилам фармацевтической технологии из веществ, отвечающих требованиям нормативной документации [М.В.Полонская, 2006].

Совместно с сотрудниками кафедры фармакологии изучали местно-раздражающее действие, биологическую безвредность и специфическую активность препаратов. Проведенные исследования позволили сделать

следующие выводы: коллаген обеспечивает пролонгирование действия препаратов и его можно использовать для регулирования терапевтического эффекта лекарственных веществ и как строительный материал для регенерации поврежденных тканей.

Разработанные способы получения геля коллагена и препаратов на его основе позволят использовать новые технологии, обеспечить потребности фармацевтической промышленности и решить проблему утилизации отходов кожаной промышленности, как отмечено в работах Л.С.Новиковой, 2014 и других исследователей.

РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СУБСТАНЦИЙ ПРИРОДНОГО И СИНТЕТИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Орешко Н. А.¹, Киселев П.А.¹, Юрага Т.М.², Кохнович Н.Н.²,
Камышников В.С.²

¹Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²Государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия
последипломного образования», Минск, Беларусь

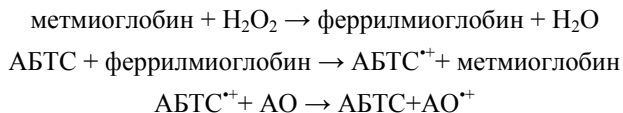
Снижение активности естественной антиоксидантной системы человека и, следовательно, возрастание концентрации свободных радикалов в организме связано со многими неблагоприятными факторами: это радиоактивное и ультрафиолетовое облучение, ухудшение экологической обстановки, широкое распространение социальных заболеваний (алкоголизм, курение, наркомания), постоянные стрессы, потребление загрязненной пищи, неконтролируемый прием некоторых лекарственных препаратов.

Для коррекции патологических состояний и в профилактических целях рекомендуют лечебные и профилактические средства. Очевидно, что направленное использование таких препаратов требует контроля их антиоксидантной составляющей с одной стороны и оценки антиоксидантного статуса организма, с другой. Вместе с тем количественная характеристика антиоксидантной активности, а, следовательно, и качества сложных по составу препаратов и биологических жидкостей является специальной задачей. Это связано не только с многообразием механизмов антиоксидантной защиты, проявляемым входящими в состав препаратов отдельными биологически активными веществами, но и с тем, что роль каждого из них может существенно различаться при различных

способах активации свободнорадикальных процессов, при этом они способны иметь одновременно несколько точек приложения. Механизм, который является действующим или доминирующим в конкретной ситуации, зависит от условий реакции, и определяет выраженность антиоксидантной активности. Как следствие, предпочтение отдается методам, направленным на определение общей антиоксидантной активности (АОА).

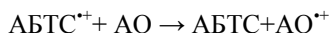
Исходя из вышесказанного целью настоящего исследования стала разработка двух тест-систем, основанных на использовании катион-радикала 2,2'-азино-бис(3-этилбензтиазолино-6-сульфоновой кислоты (АБТС^{•+}). Каждая из них представляет собой набор реагентов и предназначена для определения антиоксидантной активности широкого круга образцов, включая биологические жидкости и фармсубстанции природного и синтетического происхождения.

Первая тест-система, обозначенная как «ФитХем», основана на принципе регистрации метастабильного катион-радикала, образующегося в ходе псевдопероксидазной реакции по следующей схеме:



По мере образования АБТС^{•+} раствор приобретает характерный зелено-голубой цвет. Регистрация оптической плотности в области 600-735 нм в кинетическом режиме либо в отдельно взятой временной точке позволяет оценить концентрацию образовавшегося АБТС^{•+}. Антиоксиданты в стандарте и пробе восстанавливают АБТС^{•+} пропорционально своей активности и концентрации в образце, что приводит к возникновению индукционного периода и уменьшению оптической плотности (рис 1).

Принцип тест-системы «ОксиСтат» состоит в одноэтапной оценке степени восстановления антиоксидантами предварительно сформированного радикала АБТС, что может быть описано следующей схемой:



Антиоксиданты в стандарте и пробе восстанавливают определенное количество АБТС^{•+} и пропорционально своей активности и концентрации в образце снижают интенсивность окрашивания (рис 1).

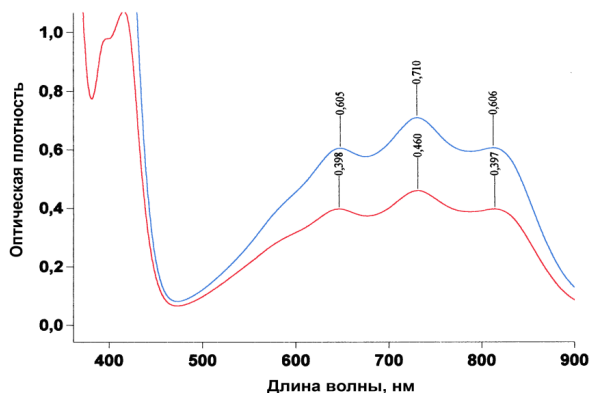


Рисунок 1 - Спектр поглощения АБТС^{•+} в отсутствие (верхняя кривая) и в присутствии антиоксиданта (нижняя кривая)

Для проведения анализа не требуется предварительно создавать специальную систему, продуцирующую на базе метмиоглобина или других гемопротеидов и пероксида водорода катион-радикал АБТС в присутствии анализируемых образцов, что может искажать их определяемую эффективность за счет параллельного взаимодействия с активными формами кислорода. Для количественной оценки антиоксидантной активности в обеих тест-системах используется калибратор с известной концентрацией.

К настоящему моменту проведена валидация обеих тест-систем, оценены их аналитические характеристики. С их помощью охарактеризована антиоксидантная активность более 100 образцов биологических жидкостей здоровых доноров и лиц с различными патологиями, а также ряд растительных экстрактов.

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ГИДРОХИНОНА И 1,4-БЕНЗОХИНОНА НА РАДИАЦИОННО-ХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ОКИСЛЕНИЯ ГЕКСАНА И ЭТАНОЛА

Островская Н.И.¹, Шадыро О.И.²

¹ Учреждение БГУ «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем», Минск, Беларусь

² Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Воздействие ионизирующего излучения или других негативных факторов обуславливает образование активных радикалов в несравненно большем количестве, чем в нормальных условиях, существенно нарушая ход обменных процессов. По мнению многих исследователей, активация свободнорадикального окисления, связанная с избыточной продукцией активных форм кислорода (АФК), особенно в сочетании с недостаточностью компенсаторных возможностей защитной антиоксидантной системы организма, приводит к химической модификации компонентов клетки, включая ДНК, белки, мембранные липиды. Кроме процессов окисления при повреждении биологически важных соединений существенную роль играют реакции фрагментации органических радикалов, протекающие с участием углеродцентрированных радикалов.

Основной массив данных по взаимодействию фенольных соединений и хинонов с АФК был получен при изучении их влияния на процессы окисления карбоцепных соединений, таких как углеводороды, полиолефины и т.д. В то же время биообъекты состоят из веществ различного строения, способных вступать в разнообразные гомолитические процессы. В этой связи интересным является получение информации, позволяющей сравнить способность производных гидрохинона и хинонов (см. рисунок) влиять на свободнорадикальные реакции, протекающие с участием углерод- и кислородцентрированных радикалов.

Как следует из полученных данных, соединения **2**, δ -токоферол (**6**), сезамол (**7**) оказались наиболее эффективными ингибиторами процесса окисления гексана. Гидрохиноны (**3**, **4**), α -токоферол (**5**) и хиноны (**8-11**) не оказывали влияния на образование продуктов радиолитического окисления гексана в присутствии кислорода.

Соединения (**5**, **6**, **7**, **8-11**), являясь эффективными акцепторами алкильных радикалов, оказывали тормозящее действие на процесс образования додеканов. Гидрохинон (**2**) проявлял умеренную активность по отношению к углеродцентрированным гексильным радикалам.

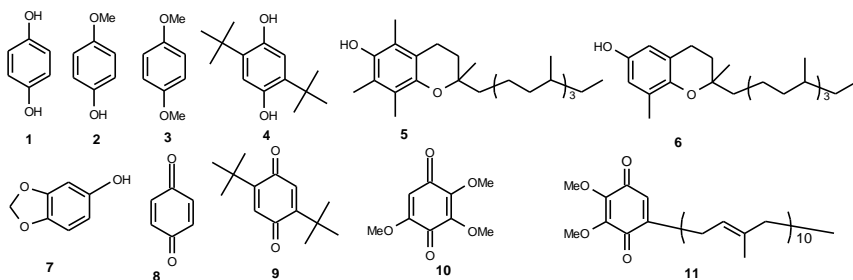


Рисунок - Структурные формулы природных и синтетических производных гидрохинона и 1,4-бензохинона

В отличие от гексана, наиболее эффективными антиоксидантами радиационно-индуцированного окисления этанола были токоферол (**5**, **6**), сезамол (**7**) и хиноны (**8–11**). В данном случае высокая антиоксидантная активность данных соединений может быть связана с их окислительными свойствами, а именно способностью окислять α -гидроксиэтильные радикалы (α -ГЭР). Пространственно-экранированный гидрохинон (**4**) в большей степени снижал выход CH_3CHO , нежели H_2O_2 . Соединения (**1**, **2**) оказывали умеренное влияние на образование продуктов радиолитического окисления этанола в присутствии кислорода.

Введение δ -токоферола (**6**), сезамола (**7**) не приводило к значительному изменению выходов продуктов радиолитического окисления деаэрированного этанола. Сопоставление данных по образованию 2,3-бутандиола (БД) и ацетальдегида (АА) указывает на то, что характерным для α -токоферола (**5**), гидрохинона (**4**) является изменение направления свободнорадикальных процессов, протекающих с участием α -гидроксиэтильных радикалов в сторону увеличения выхода АА за счёт существенного уменьшения выхода БД. Особенно заметно это проявляется при радиолитическом окислении этанола в присутствии хинонов (**8–9**), коэнзимов Q_0 и Q_{10} (**10**, **11**). Это указывает на высокую реакционную способность данных соединений по отношению к α -ГЭР.

Полученные данные указывают на наличие у производных гидрохинона, а также 1,4-бензохинонов новых свойств, связанных с их способностью регулировать радиационно-индуцированные свободнорадикальные реакции, протекающие с участием α -гидроксилсодержащих углерод- и кислородцентрированных радикалов.

ВЛИЯНИЕ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА, 28-ГОМОБРАССИНОЛИДА И ИХ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ НА УРОВЕНЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ОПУХОЛЕВОЙ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ A549 (КАРЦИНОМА ЛЕГКОГО)

Панибрат О.В., Киселев П.А., Жабинский В.Н., Анисович М.В.,
Хрипач В.А.

Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

В настоящее время известно, что активные формы кислорода, такие как гидроксил-радикал (OH^\bullet), супероксид-анион ($\text{O}_2^{\bullet-}$), пероксид водорода (H_2O_2) оказывают множество как отрицательных, так и положительных биологических эффектов. Они участвуют в регуляции клеточного цикла, в процессе апоптоза, ряде метаболических реакций являются медиаторами сигнальной трансдукции и др [1]. В то же время они играют значительную роль и в развитии ряда заболеваний, в том числе и онкологических. С одной стороны, они способствуют инициации и прогрессии опухолей, вызывая окислительные модификации ДНК и как следствие генные мутации. С другой стороны, они вовлечены в механизм действия многих химиотерапевтиков, например доксорубина. [2,3].

В качестве соединений, обладающих потенциальной антиканцерогенной активностью, всё чаще рассматриваются вещества растительного происхождения. Среди них особый интерес вызывают брассиностероиды – регуляторы роста и дифференцировки растительных клеток. О влиянии брассиностероидов на функционирование организма человека и животных известно мало. Тем не менее, в последнее время появились сообщения об антипролиферативной активности брассиностероидов в отношении ряда эстроген-чувствительных опухолевых клеточных линий (в частности, аденокарциномы молочной железы MCF-7). Механизм их действия в первую очередь связывают с остановкой клеточного цикла и изменением экспрессии циклин-зависимых протеинкиназ, что приводит к апоптозу. Значительно меньше известно о их действии в отношении эстроген-независимых опухолевых клеточных линий [4,5,6].

В данной работе были проанализированы 2 природных брассиностероида и 2 их синтетических производных (рис.1) на эстроген-независимой линии A549 (карцинома легкого).

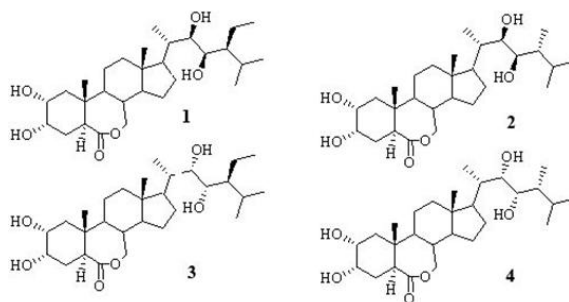


Рисунок 1 - Структура 28-гомобрасинолида (1), 24-эпибрасинолида (2), (22S,23S)-28-гомобрасинолида (3) и (22S,23S)-24-эпибрасинолида (4)

Методом МТТ-теста было показано, что данные соединения обладают антипролиферативной активностью, снижающейся в ряду $3 > 2 > 1 > 4$. Методом проточной цитометрии с использованием 2',7'-дихлордигидрофлуоресцеина диацетата исследовано влияние анализируемых брасиностероидов на уровень окислительный стресса в клетках линии A549. В отличие от природных 1 и 2, синтетические производные брасиностероидов 3 и 4 увеличивают уровень окислительного стресса в 2-5 раз, по сравнению с контролем. Полученные данные указывают на возможную взаимосвязь антипролиферативной активности с уровнем окислительного стресса клеток.

Литература:

1. Assim A. Alfadda and Reem M. Sallam *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2012, p.1-14.
2. Pizzimenti, S., Toaldo, C., Pettazzoni, P., Dianzani, M. U. and Barrera, G. *Cancers* 2010, 2, p.338-363.
3. M. Yoshida, I. Shiojima, H. Ikeda, and I. Komuro, *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 2009, 47(5), pp. 698–705.
4. Hoffmannová L. *A study of molecular and cellular activities of brassinosteroids and their derivatives: Ph.D. Thesis*. 2010, 136 s.
5. Hoffmannová, L. *Brassinosteroids: Practical Applications in Agriculture and Human Health*. 2012. Ch. 8. p. 84-93.

ФОТОХИМИЧЕСКАЯ ДЕСТРУКЦИЯ СФИНГОЛИПИДОВ И МОДЕЛИРУЮЩИХ ИХ АМИНОСПИРТОВ В ПРИСУТСТВИИ ИОНОВ Co(II)

Проценко К.О., Лисовская А.Г., Прокашева В.А., Шадыро О.И.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Сфинголипиды являются распространенными компонентами клеточных мембран эукариот, участвуют в различных клеточных процессах, и вовлечены в развитие ряда заболеваний. Поэтому представляет интерес установить механизмы, по средствам которых сфинголипиды могут регулировать клеточные функции и патологии.

Ранее показано [1,2], что фотолиз водных дисперсий ацилсодержащих сфинголипидов - церамидов, сфингомиелинов и галактоцереброзидов - сопровождается образованием 2-гексадеценаля. Этот процесс включает стадию фотораспада по Норришу типа I исходных соединений с образованием и последующей фрагментацией N-центрированных радикалов с разрывом С-С- и ОН-связей. Лизосфинголипиды, содержащие свободную аминогруппу, не подвергаются фотоиндуцированной С-С-деструкции.

В работах [3,4] была отмечена фотокаталитическая способность солей кобальта к окислению водных растворов. При изучении фотохимических реакций комплексов аминов с кобальтом (III) [4] установлено образование согласованных переходных состояний ионов кобальта (II) со свободными радикалами. В связи с чем, в работе была исследована возможность свободнорадикальной деструкции лизосфинголипидов и моделирующих их аминок спиртов в результате комплексообразования с ионами Co(II) при действии УФ-излучения. С этой целью в работе были изучены фотохимические превращения ряда аминок спиртов, такие как аминоэтанол, 1-аминопропанол-2, 3-аминоглицерин, сериол, а также С15-сфингозин - (E)-2-аминопентад-4-ен-1,3-диол. В качестве источника УФ света использовали дуговую ртутную трубчатую лампу высокого давления (ДРТ-100) со сплошным спектром. Перед облучением УФ светом растворы аминок спиртов ($c=0,1$ моль/л) и дисперсии С15 сфингозина ($c=5$ ммоль/л) смешивались с раствором $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($c=0,1$ М, рН 4,6) в соотношении концентраций 1:1.

В ходе исследования было установлено, что действие ультрафиолета с ионами кобальта (II) индуцирует образование карбонильных продуктов свободнорадикальной деструкции аминок спиртов. Квантовые выходы продуктов деструкции аминок спиртов приведены в таблице.

Таблица – Квантовые выходы (Φ , молекула/квант) образования карбонильных продуктов фотолиза деаэрированных 0,05 М растворов исследуемых аминспиртов с добавками 0,05 М растворов CoCl_2

Исследуемые системы	Продукты фотолиза	Φ
Серинол с добавкой CoCl_2	HOCH_2CHO	$(6,64 \pm 0,03) \times 10^{-4}$
	CH_2O	$(18,72 \pm 0,62) \times 10^{-4}$
Серинол без добавок	HOCH_2CHO	$(4,70 \pm 0,13) \times 10^{-4}$
	CH_2O	$(14,63 \pm 0,73) \times 10^{-4}$
3-амино-пропандиол-1,2 с добавкой CoCl_2	HOCH_2CHO	$(3,67 \pm 0,04) \times 10^{-4}$
	CH_2O	$(22,67 \pm 0,68) \times 10^{-4}$
3-амино-пропандиол-1,2 без добавок	HOCH_2CHO	$(1,17 \pm 0,05) \times 10^{-4}$
	CH_2O	$(8,43 \pm 0,22) \times 10^{-4}$

Накопление продуктов фотолиза 3-амино-пропандиола-1,2 в присутствии добавки CoCl_2 от времени облучения линейно, в то время, как накопление продуктов фотолиза этого аминспирта без добавок не происходит. Типичная зависимость изменения концентрации гликолевого альдегида и формальдегида в облученных растворах 3-амино-пропандиола-1,2 от времени облучения приведена на рисунке. Приведенные на рисунке данные свидетельствуют о том, что данные продукты являются первичными продуктами фотолиза исходных соединений.

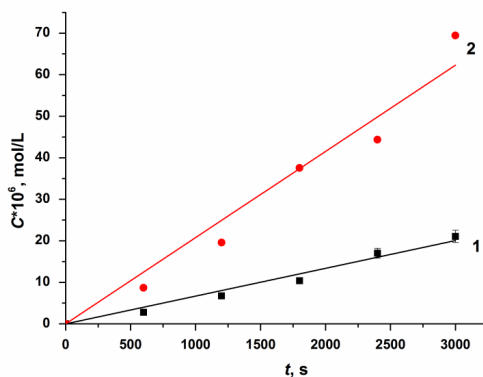


Рисунок – Накопление гликолевого альдегида (1) и формальдегида (2) в деаэрированных 0,1 М водных растворах 3-амино-пропандиола-1,2 при облучении УФ-светом в присутствии CoCl_2

C15-сфингозин, в структуре которого присутствует аминоспиртовый фрагмент, также подвергаются фотохимической деструкции в присутствии Co(II) с образованием 2-пентадеценаля. Мы предполагаем, что фотохимическая деструкция аминоспиртов и сфинголипидов включает стадию образования переходного комплекса аминоспиртового фрагмента с ионами Co(II), который далее фрагментирует с разрывом C-C-связи.

Литература:

1. Lisovskaya A., Edimecheva I., Shadyro O // Lipids. – 2011. – Vol. 46. – P. 271–276.
2. Lisovskaya A., Shadyro O., Edimecheva I. // Photochem. Photobiol. – 2012. – Vol. 88. – P. 899–903.
3. Harriman A., Pickering I.J., Thomas J.M., Christensen P.A. // J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1. – 1988. – Vol. 84. – P. 2795–2806.
4. Natarajan E., Natarajan P. // Inorg. Chem. – 1992. – Vol. 31. – P. 1215–1220.

ВЛИЯНИЕ БЕНЗОХИНОНОВ НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ДЕФОСФОРИЛИРОВАНИЕ ГЛИЦЕРО-1-ФОСФАТА

Самович С.Н.^{1,2}, Исайчикова Я.А.², Якимовец О.Н.³, Едимечева И.П.¹,
Шадыро О.И.^{1,2}

¹ Учреждение БГУ «Научно-исследовательский институт
физико-химических проблем», Минск, Беларусь

² Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

³ ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов», Борисов, Беларусь

Вещества, содержащие фосфоэфирные связи, играют важную роль при функционировании биосистем. Деструкция такого типа соединений приводят к существенным нарушениям в функционировании организма. Известно, что повреждение фосфолипидов может происходить не только за счет процессов окисления, которые протекают в липофильной части биомолекул, но и в результате реакций свободнорадикальной фрагментации (СФ), реализующиеся при взаимодействии активных форм кислорода с гидрофильными фрагментами глицерофосфолипидов. В наших работах показано, что в условиях гипоксии в результате СФ гидроксилсодержащих глицерофосфолипидов образуются фосфатидные кислоты (ФК). Последние в здоровых клетках играют важную роль в регулировании процессов клеточной пролиферации и апоптоза. Известно также, что ФК является липидным мессенджером в процессах, способствующих выключению апоптоза и повышению выживаемости раковых клеток. В условиях гипоксии лучшими блокаторами неферментативных путей образования ФК являются вещества хиноидного типа.

В настоящей работе методом стационарного радиолитического изучения влияния бензохинонов (рис. 1) на свободнорадикальное радиационно-индуцированное дефосфорилирование глицеро-1-фосфата (ГФ) в водных растворах при pH 7. Помимо того, что ГФ представляет собой важный компонент клетки, он является веществом, моделирующим фрагмент молекул глицерофосфолипидов, что позволяет использовать его как модельное соединение.

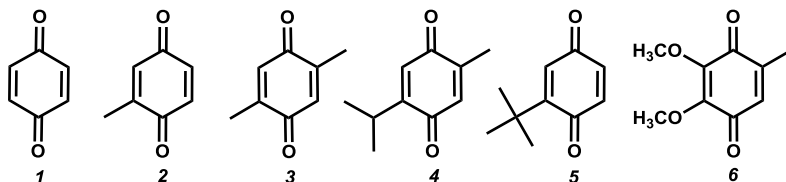
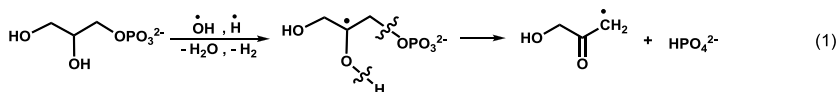


Рисунок 1 – Структурные формулы тестируемых бензохинонов

Одним из основных продуктов γ -радиолитического распада водных растворов ГФ является фосфат-анион, который образуется преимущественно за счет реакции СФ α -гидроксилсодержащих углеродцентрированных радикалов (α -ГУР) ГФ:



При облучении раствора, содержащего эквимольные концентрации (10^{-3} : 10^{-3} моль/л) ГФ и тестируемого соединения, имеет место конкуренция между растворенными веществами за радикальные продукты радиолитического распада воды. Экспериментальные данные указывают на то, что тестируемые добавки в эквимольных с органическим фосфатом концентрациях за счет взаимодействия с $\bullet\text{OH}$ радикалами эффективно подавляют процесс дефосфорилирования ГФ в деаэрированных водных растворах, снижая радиационно-химические выходы H_2PO_4^- в среднем в 7 раз.

При увеличении концентрации субстрата в 10 и 100 раз уменьшение выходов H_2PO_4^- в присутствии бензохинонов происходит не пропорционально тому, как должно следовать из закономерностей кинетики конкурирующих реакций. При радиолитическом расходе 0,01 М и 0,1 М водных растворов ГФ $\bullet\text{OH}$ -радикалы преимущественно реагируют с органическим фосфатом с образованием соответствующих α -ГУР. В данных условиях наблюдаемое влияние тестируемых добавок на радиационно-химические выходы H_2PO_4^- обусловлено их взаимодействием с углеродцентрированными радикалами ГФ. Добавки подавляют образование неорганического фосфата

в среднем на 50% и 65% при радиоллизе 0,1 М и 0,01 М деаэрированных водных растворов ГФ соответственно. Наблюдаемые эффекты могут быть обусловлены окислением образующихся α -ГУР бензохиноном и его производными. Высокие выходы разложения тестируемых бензохинонов (1,2,5) по сравнению с соединениями (3,4,6), вероятно, связаны с реализацией дополнительных свободнорадикальных реакций с участием бензохинона и его монозамещенных производных.

Таким образом, бензохинон и его производные способны эффективно ингибировать процессы радиационно-индуцированной фрагментации α -ГУР ГФ в деаэрированных водных растворах, приводящие к элиминированию неорганического фосфата.

РЕДОКС-АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Семенкова Г.Н.¹, Адзерихо И.Э.², Яцевич О.Н.², Лешкова К.Д.¹,
Мечковская Е.В.¹, Маренкова Я.А.¹

¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

²Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Беларусь

Легочная артериальная гипертензия (ЛАГ) сопровождается ремоделированием и неконтролируемой вазоконстрикцией легочных сосудов, в результате чего повышается давление в системе легочной артерии и увеличивается сосудистое сопротивление. В дальнейшем это приводит к сердечной недостаточности и отеку легких. Особенностью ЛАГ является изменение иммунитета и развитие в легких воспалительного процесса. Об этом свидетельствует инфильтрация легочной ткани различными воспалительными клетками (макрофагами, нейтрофилами, Т- и В-лимфоцитами), увеличение цитокинов и факторов роста в ремоделированных сосудах, наличие циркулирующих хемокинов и цитокинов. Однако механизмы формирования воспаления у пациентов с ЛАГ, что необходимо для определения терапевтических мишеней, до конца не выяснены. Цель нашего исследования: изучить кислородактивирующую способность нейтрофилов периферической крови крыс в норме и при ЛАГ.

Для создания физиологической модели ЛАГ крысам вводили монокроталин подкожно (60 мг/кг). Генерацию активных форм кислорода (АФК) в нейтрофилах изучали методом хемилюминесценции (ХЛ) на биохемилюминометре БХЛ-1 (Минск, Беларусь). Определение АФК проводили с использованием люминола, который взаимодействует со всеми типами АФК. Для идентификации супероксидных анион-радикалов ис-

пользовали люцигенин. «Дыхательный взрыв» в нейтрофилах индуцировали с помощью хемотаксического пептида fMLP. Вклад ферментов в процессы внутриклеточной сигнализации, которые участвуют в усиленной продукции АФК, оценивали с использованием специфических ингибиторов: DPI – ингибитор флавиносодержащих ферментов (НАДФН-оксидаза, NO-синтаза, дегидрогеназы электронтранспортной цепи митохондрий), ABAH – миелопероксидазы, LY – ФИ-3-киназы, аспирин – циклооксигеназы.

Из рисунка 1 видно, что суммарный выход АФК (А) и супероксидных анион-радикалов (Б) в нейтрофилах крови животных через 14 и 28 дней после инъекции монокроталина в несколько раз ниже, чем у здоровых крыс.

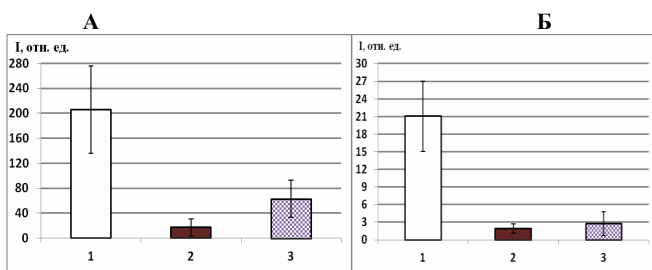


Рисунок 1 – Суммарный выход АФК (А) и супероксидных анион-радикалов (Б) в нейтрофилах крови здоровых (1) и больных крыс через 14 (2) и 28 (3) дней после инъекции монокроталина

Из этого следует, что у животных в ходе моделирования ЛАГ происходит нарушение кислородактивирующей функции. Снижение интенсивности ХЛ, зарегистрированной с помощью люцигенина, свидетельствует об уменьшении активности НАДФН-оксидазы, локализованной в плазматической мембране, поскольку по данным литературы проникновение этого индикатора ХЛ внутрь клетки затруднено. На рисунке 2 показано влияние ингибиторов компонентов сигнальных путей на продукцию АФК в нейтрофилах здоровых и больных животных. Видно, что в нейтрофилах крыс с ЛАГ снижен вклад в продукцию АФК миелопероксидазы, ФИ-3-киназы и циклооксигеназы, тогда как участие флавиносодержащих ферментов (помимо НАДФН-оксидазы) в продукции АФК заметно увеличено.

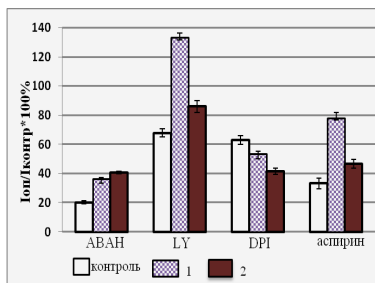


Рисунок 2 – Влияние ингибиторов процессов внутриклеточной сигнализации на суммарный выход АФК в нейтрофилах крови здоровых (1) и больных крыс через 14 (2) и 28 (3) дней после инъекции монокроталина

Таким образом, при экспериментальной ЛАГ у крыс наблюдается уменьшение кислородактивирующей способности нейтрофилов, стимулированных хемотаксическим пептидом fMLP, и модифицируются процессы внутриклеточной сигнализации.

ПОИСК РЕГУЛЯТОРОВ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЙ ДЕСТРУКЦИИ АМИНОСОДЕРЖАЩИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

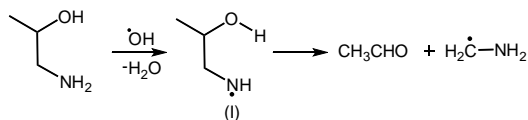
Сладкова А.А.^{1,2}, Насекайло В.А.¹, Едимечева И.П.², Шадыро О.И.^{1,2}

¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

²Учреждение БГУ «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем», Минск, Беларусь

Свободнорадикальные процессы играют важную роль при функционировании биосистем. В то же время гиперпродукция активных форм кислорода, в частности ОН-радикалов, и индуцированные ими гомолитические превращения биомолекул могут способствовать возникновению большого числа заболеваний. α, β -Аминоспиртовый фрагмент входит в состав многих биологически важных соединений, таких как гидроксилсодержащие аминокислоты и пептиды, сфинголипиды, аминоксахара и их производные.

Ранее в наших работах [1, 2] был установлен путь радиационно-индуцированной деструкции углеродного скелета таких соединений через образование азот-центрированных радикалов с последующим одновременным разрывом С–С и О–Н связей. Удобной моделью для изучения гомолитического процесса С–С-деструкции вышеперечисленных биомолекул являются водные щелочные растворы 1-амино-2-пропанола, при γ -облучении которых генерируются ОН-радикалы, способные индуцировать протекание реакций в соответствии со следующей схемой:



Основным молекулярным продуктом деструкции азотцентрированных радикалов 1-амино-2-пропанола является ацетальдегид, по величине радиационно-химического выхода которого можно судить о реализации данного процесса в различных условиях [3]. Широкая распространенность свободно-радикальной деструкции углеродного скелета соединений, содержащих α,β -аминоспиртовый фрагмент, обуславливает актуальность поиска веществ, способных ингибировать этот процесс, тем самым предотвращая повреждение биомолекул. В работе [3] было установлено, что цистеин за счет наличия в своей структуре SH-группы способен ингибировать процесс радиационно-индуцированной деструкции углеродного скелета 1-амино-2-пропанола путем восстановления аминильных радикалов (I). Также известно, что триптофан, 5-гидрокситриптофан и ряд β -карболиновых алкалоидов способны восстанавливать кислородцентрированные радикалы за счет реакции переноса электронов с неподеленной пары атомов азота [4].

Вышеописанные данные обуславливают целесообразность изучения реакционной способности по отношению к аминильным радикалам α,β -аминоспиртов производных цистеина, незаменимой аминокислоты триптофана и ряда других соединений. В настоящей работе проведен радиолиз водных щелочных 0.1 М деаэрированных растворов 1-амино-2-пропанола в присутствии цистеина (I), глутатиона (II), триптофана (III), 5-гидрокситриптофана (IV), триптамина (V), тетрагидроноргармана (VI), гистидина (VII), 1-метил-2-меркаптоимидазола (VIII), дофамина (IX) и 3,4-дигидроксibenзойной кислоты (X). Структурные формулы исследуемых добавок представлены на рисунке.

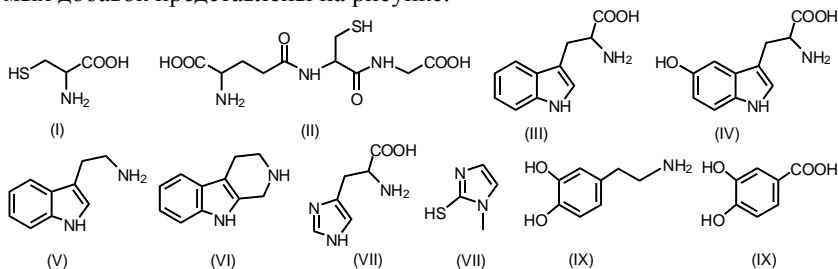


Рисунок – Структурные формулы исследуемых добавок

Установлено влияние исследуемых соединений ($c=10^{-3}$ моль/л) на радиационно-химические выходы продукта деструкции углеродного скелета аминспирта – ацетальдегида, определены выходы разложения добавок. Показано, что в присутствии большинства исследованных соединений выходы ацетальдегида снижались в $1,5 \div 9,0$ раза, что указывает на их способность блокировать деструкцию азотцентрированных радикалов 1-амино-2-пропанола. Цистеин, глутатион, дофамин и 5-гидрокситриптофан в наибольшей степени ингибировали образование ацетальдегида.

Совокупность экспериментальных данных позволяет рассматривать цистеин и производные триптофана как перспективный класс соединений для поиска ингибиторов деструкции углеродного скелета биомолекул, содержащих α, β -аминоспиртовый фрагмент.

Литература:

1. A.G. Lisovskaya, O.I. Shadyro, I.P. Edimecheva // *Lipids*. 2011. Vol. 46. P. 271–276.
2. A.A. Sladkova et al. // *The FEBS Journal*. 281 (Suppl. 1). 2014. P. 624–625.
3. A.A. Sladkova et al. // *Radiat. Phys. Chem*. 2014. Vol. 96. P. 229–237.
4. Р.Л. Свердлов и др. // *Хим. выс. энергий*. 2015. Т. 49, №. 2. С. 89–98.

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ИНДОЛА НА ИНДУЦИРОВАННОЕ ИОНИЗИРУЮЩИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ ДЕФОСФОРИЛИРОВАНИЕ ГЛИЦЕРО-1-ФОСФАТА

Станишевский С.Б.¹, Свердлов Р.Л.^{1,2}, Шадыро О.И.^{1,2}

¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

²Учреждение БГУ «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем», Минск, Беларусь

Глицерофосфолипиды являются одним из основных компонентов биомембран. В результате свободнорадикальных (СР) превращений происходит химическая модификация структуры липидов, которая обуславливает нарушение целостности биомембран, изменяя их проницаемость для внутри- и внеклеточных компонентов. В случае интенсивного протекания свободнорадикальных процессов, например, при действии ионизирующих излучений, может происходить гибель либо пролиферация клеток. Основными механизмами СР повреждения глицерофосфолипидов являются перекисное окисление липидов и фрагментация α -гидроксилсодержащих углеродцентрированных радикалов (α -ГУР) глицеринового участка молекулы [1, 2]. Последний процесс наиболее интенсивно протекает в условиях гипоксии. В работе [2] было показано, что в

результате СР фрагментации глицерофосфолипидов, протекающей через стадию образования и последующего распада α -ГУР, образуются фосфатидные кислоты, регулирующие пролиферацию клеток. Таким образом, интенсификация СР процессов в результате нарушения обменных процессов или действия внешних факторов в совокупности с гипоксией будут способствовать образованию опухолей, повышая вероятность развития рака. Последнее обуславливает необходимость поиска ингибиторов фрагментации α -ГУР глицерофосфолипидов в организме человека.

Радиационно-индуцированные превращения глицеро-1-фосфата (Г1Ф) моделируют процессы СР деструкции полярного участка молекул глицерофосфолипидов. Поэтому в настоящей работе поиск ингибиторов фрагментации α -ГУР осуществляли, оценивая влияние индола и его производных (см. рисунок) на образование неорганического фосфата при радиационно-индуцированном дефосфорилировании Г1Ф в деаэрированных водных растворах при pH 7 (см. схемы 1, 2).

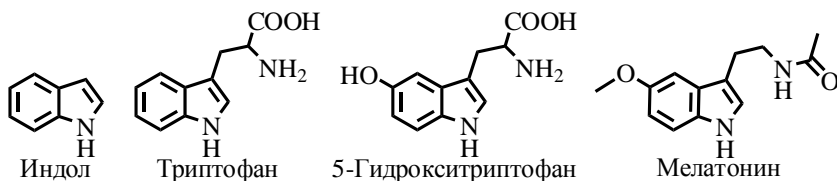
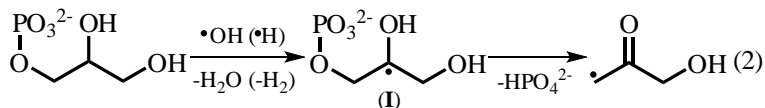
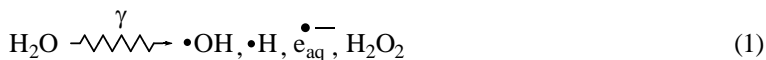


Рисунок – Структурные формулы исследуемых в работе соединений

В эксперименте с эквимоллярными концентрациями добавок и Г1Ф было показано, что в присутствии исследуемых соединений в 3–4,5 раза снижаются радиационно-химические выходы неорганического фосфата в сравнении с раствором без добавок. В меньшей степени подавление дефосфорилирования наблюдалось в присутствии индола. Вследствие высоких констант скоростей взаимодействия исследуемых веществ с $\text{OH}\cdot$, $\text{H}\cdot$ -радикалами наблюдаемые эффекты обусловлены их конкуренцией с Г1Ф за радикальные продукты радиолиза воды.



При увеличении концентрации органического фосфата (до соотношения добавка : Г1Ф – 1:10 и 1:100) ингибирование СР фрагментации α -ГУР (I) происходит преимущественно за счет взаимодействия исследуемых веществ с углеродцентрированными радикалами органического фосфата. В эксперименте наблюдалось уменьшение степени подавления процесса дефосфорилирования по сравнению с установленной для эквивалентных концентраций. Тем не менее, в присутствии триптофана, 5-гидрокситриптофана и мелатонина радиационно-химический выход неорганического фосфата снижался в 1,5-2 раза.

Таким образом, триптофан, 5-гидрокситриптофан и мелатонин являются эффективными ингибиторами СР фрагментации α -ГУР Г1Ф.

Литература:

1. Halliwell, B. Free radicals in biology and medicine / B. Halliwell, J.M.C. Gutteridge. – Oxford: University Press, 2007. – 851 p.
2. Formation of phosphatidic acid, ceramide, and diglyceride on radiolysis of lipids: identification by MALDI-TOF mass spectrometry / O.I. Shadyro [et al.] // Free Rad. Biol. Med. – 2004. – Vol. 36, № 12. – P. 1612-1624.

ИЗУЧЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ТИМЬЯНА ДВУЛИКОГО (*THYMUS DIMORPHUS KLOK. ET SCHOST.*)

Старчак Ю.А., Бубенчикова В.Н.

ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет Минздрава России», кафедра фармакогнозии и ботаники, Курск, Россия

The phenolic compounds of *Thymus dimorpus Klok. et Schost.* presented by flavonoids, phenolcarboxylic acids, coumarins, have been studied. Cinaroside, has been identified from the flavonoids, from the phenolcarboxylic acids: caffeic, chlorogenic, rosmarinic acid, of the coumarins – scopoletin, umbelliferone, esculetin. Quantitative content of flavonoids is 1,12-1,43%.

В научной медицине России широко используется тимьян ползучий *Thymus serpyllum L.* в качестве отхаркивающего средства в форме настоя и жидкого экстракта. Наряду с тимьяном ползучим на территории Европейской части России произрастает около 20 близких видов, которые в природных условиях не различаются заготовителями и используются наравне с тимьяном ползучим, однако химический состав их изучен недостаточно.

Целью нашей работы явилось изучение фенольных соединений тимьяна двуликого.

Материалы и методы. Объектом исследования служила трава тимьяна двуликого, заготовленная в 2012-2014 гг в Курской области в фазу цветения.

Выделение фенольных соединений осуществляли экстракцией 70 % спиртом этиловым, растворитель отгоняли, очищали от липофильных веществ четыреххлористым углеродом. Учитывая разнообразие полярности сложной смеси флавоноидов, кумаринов и фенолкарбоновых кислот, очищенные водные извлечения фракционировали методом селективной экстракции диэтиловым эфиром, этилацетатом. Разделение смеси флавоноидов, фенолкарбоновых кислот, кумаринов проводили методом препаративной хроматографии на колонках в сочетании с препаративной хроматографией на бумаге.

Структуру выделенных веществ устанавливали с использованием классических химических и физико-химических методов анализа на основании физико-химических свойств исходных соединений и продуктов их превращения, УФ- и ИК-спектров, величин R_f в различных системах растворителей, а также температур плавления проб смешения с достоверными образцами [1].

Фенолкарбоновые кислоты анализировали методом хромато-масс-спектрометрии [2]. Для количественного определения флавоноидов использовали спектрофотометрический метод, основанный на реакции взаимодействия флавоноидов с алюминия хлоридом в среде 70 % спирта этилового и модифицированный нами [1].

Результаты и обсуждение. Установлено, что выделенные фенольные соединения тимьяна двуликого представлены флавоноидными соединениями (1 вещество), фенолкарбоновыми кислотами (3 соединения), кумаринами (3 соединения).

Выделенное флавоноидное соединение по результатам качественного анализа, хроматографии в различных системах растворителей, УФ-спектроскопии, продуктов количественного кислотного гидролиза, физико-химических свойств отнесено к моногликозидам флавоноидов. Углеводная часть у него представлена глюкозой и присоединена по 7 положению молекулы. В продуктах кислотного гидролиза идентифицировали лютеолин. Таким образом, исследуемый флавоноид идентифицировали как цинарозид (лютеолин-7-глюкозид).

Выделенные фенолкарбоновые кислоты представлены кофейной, розмариновой и феруловой кислотами.

Методом хромато-масс-спектрометрии идентифицировали 9 кислот: ванилиновая, п-оксибензойная, сиреневая, гентизиновая, феруловая, 4-гидрокси-3-метоксибензойная, бензойная, фенилуксусная, салициловая.

Кумариновая природа исследуемых соединений подтверждена также деструкцией кислотой йодистоводородной в среде жидкого фенола. В сравнении с достоверными образцами кумарины охарактеризовали как скополетин, эскулетин, умбеллиферон. Анализ результатов спектрофотометрического определения флавоноидов показал, что в траве тимьяна двуликого содержание их колеблется от 0,81% до 0,86 %.

Выводы. Таким образом, изучены фенольные соединения тимьяна двуликого, представленные флавоноидами, фенолкарбоновыми кислотами, кумаринами.

Литература:

1. Бубенчиков, Р.А. Изучение фенольных соединений и полисахаридов травы фиалки скальной / Р.А. Бубенчиков // Башкир. Хим. журн. - 2011, т. 18, № 1. – С. 128-130.
2. Бубенчикова, В.Н. Карбоновые кислоты травы тимьяна мелового (*Thymus cretae* Klink. et Schost.) / Бубенчикова В.Н., Старчак Ю.А. // Фармация и фармакология.- 2014 г. - № 5. – С. 4-7.

ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ АМИНОВ НА ИХ СПОСОБНОСТЬ ИНГИБИРОВАТЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЭТАНОЛА

Телегов Ю.И.¹, Индюкова Н.А.¹, Свердлов Р.Л.^{1,2}, Шадыро О.И.^{1,2}

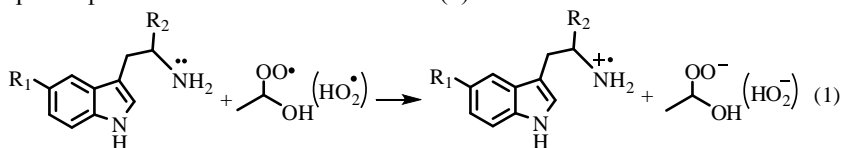
¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

²Учреждение БГУ «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем», Минск, Беларусь

Активные формы кислорода (АФК), образующиеся в живых организмах в процессе жизнедеятельности либо под действием внешних факторов, являются инициаторами свободнорадикальных превращений биомолекул [1]. АФК в присутствии кислорода могут инициировать цепные процессы окисления, среди которых наиболее изученным является перекисное окисление липидов (ПОЛ), приводящее к нарушению целостности биомембран и образованию токсичных веществ [1, 2]. Нормальное функционирование биосистем сопряжено с поддержанием необходимого уровня образования и расходования АФК при помощи антиоксидантной системы организма. В качестве вспомогательных средств для коррекции случаев развития окислительного стресса (воспалительные процессы, лучевая терапия, аварийное воздействие ионизирующих излучения и др.) можно использовать внешние источники низкомолекулярных антиоксидантов: водо- и жирорастворимые витамины, растительные полифено-

лы и другие соединения [1]. Несмотря на довольно широкий перечень известных антиоксидантов существует необходимость создания более эффективных ингибиторов окисления, специфичных к определенным процессам окисления либо способных локально накапливаться в тканях живых организмов.

В работах [3, 4] была показана способность триптофана и его производных ингибировать процесс радиационно-индуцированного окисления насыщенного кислородом этанола. Был предложен механизм восстановления кислородцентрированных радикалов за счет реакции переноса электрона с неподеленной пары атома азота аминогрупп производных триптофана в соответствии со схемой (1):



Установление факторов, оказывающих влияние на реализацию предложенного механизма, откроет широкие перспективы для поиска эффективных ингибиторов свободнорадикального окисления в живой и неживой природе среди азотсодержащих соединений.

В настоящей работе исследовано влияние структуры циклических аминов (см. рисунок) на их способность восстанавливать кислородцентрированные радикалы, образующиеся при радиационно-химических превращениях насыщенного кислородом этанола.



Рисунок – Структурные формулы исследуемых в работе соединений

В результате проведенных исследований было показано, что амины, в которых отсутствует ароматическая система, способны в 2-3 раза снижать радиационно-химические выходы продуктов окисления этанола – ацетальдегида и пероксида водорода. В парах пиперидин-пиридин и циклогексиламин-анилин происходит снижение способности ингибировать окисление этанола, по-видимому, обусловленное влиянием ароматической системы молекул на неподеленную пару электронов атомов азота. Пиррол, в структуре которого пара электронов атома азота непосредственно участвует в образовании ароматической системы молекулы, не

оказывает влияния на радиационно-химическое окисление этанола. Таким образом, наибольшую способность ингибировать свободнорадикальное окисление следует ожидать от азотсодержащих соединений в структуре которых неподеленная пара электронов атома азота не подвержена влиянию и участию в образовании ароматической системы молекулы.

Литература:

1. Halliwell, B. Free radicals in biology and medicine / B. Halliwell, J.M.C. Gutteridge. – Oxford: University Press, 2007. – 851 p.
2. Antunes F., Salvador A., Marinho H.S., Alves R., Pinto R.E. // Free Rad. Biol. Med. – 1996. – Vol. 21, № 7. – P. 917-943.
3. Sverdlov R.L., Brinkevich S.D., Shadyro O.I. // Radiation Physics and Chemistry. – 2014. – Vol. 98. – P. 77-85.
4. Sverdlov R.L., Brinkevich S.D., Shadyro O.I. // Free Radical Research – 2014. – Vol. 48, № 10. – P. 1200-1205.

ИНФРАКРАСНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ В ВЫЯВЛЕНИИ АНТИВИРУСНОЙ АКТИВНОСТИ ФЕНОЛАЗОМЕТИНОВ

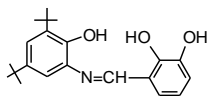
Толсторожев Г.Б.¹, Бельков М.В.¹, Шадыро О.И.², Ксендзова Г.А.²,
Сорокин В.Л.²

¹Институт физики НАН Беларуси, Минск, Беларусь

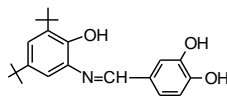
²Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

В исследованиях антивирусной активности перспективны органические соединения из класса фенолазометинов (ФАМ), которые, являясь эффективными ингибиторами свободнорадикальных процессов, обладают различными типами фармакологической активности [1, 2].

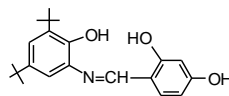
В данной работе методами ИК Фурье-спектроскопии исследовано влияние ОН заместителей на образование внутримолекулярных водородных связей (ВВС) в растворах CCl₄ для трех изомеров ФАМ.



I



II



III

Как показали предварительные эксперименты на клеточных культурах, соединение ФАМ I обладает активностью против вируса герпеса, а соединения ФАМ II и ФАМ III – биологически малоактивны.

ИК спектры 10^{-3} М растворов изомеров ФАМ в CCl_4 регистрировались на ИК Фурье-спектрометре NEXUS при спектральном разрешении 2 см^{-1} с усреднением 256 повторных сканирований.

На рис. 1 в области валентных колебаний О–Н и С–Н представлены обзорные ИК спектры растворов изомеров ФАМ в CCl_4 .

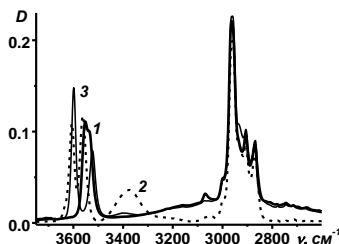
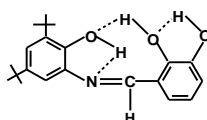


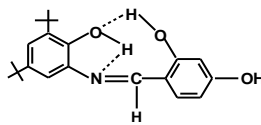
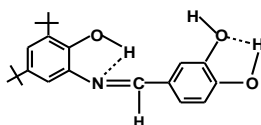
Рисунок 1 - Инфракрасные спектры 10^{-3} М растворов в CCl_4 ФАМ I (1), ФАМ II (2) и ФАМ III (3) в области валентных колебаний О–Н и С–Н

Детальный анализ ИК Фурье-спектров ФАМ I показал [см. 2], что полосы поглощения этого соединения в области $\sim 3600 \text{ см}^{-1}$ обусловлены образованием внутримолекулярных водородных связей (ВВС) типа О–Н \cdots О–Н, а также ВВС типа О–Н \cdots Н=C.

В противовирусно активной молекуле ФАМ I «свободные» гидроксильные группы О–Н в ИК спектре не регистрируются, «связанные» О–Н группы отчетливо проявляются, а общая совокупность ВВС в молекуле описывается следующей структурой [2]:



В малоактивных молекулах ФАМ II и ФАМ III «свободные» О–Н группы в ИК спектрах проявляются, регистрируются также «связанные» колебания О–Н и образуются ВВС следующих двух типов [2]:



На основе анализа ИК Фурье-спектров фенолазометинов выявлены спектральные признаки образования внутримолекулярных взаимодействий трех типов: $\text{O}-\text{H}\cdots\text{N}=\text{C}$, $\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}-\text{H}$ и $\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}-\text{H}\cdots\text{N}=\text{C}$.

Между процессами образования внутримолекулярных водородных связей в молекулах и наличием антивирусных свойств у соединений класса фенолазометинов имеет место эмпирическая корреляция.

Признаком наличия противовирусной активности является присутствие в молекулах фенолазометинов внутримолекулярных водородных связей типа $\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}-\text{H}\cdots\text{N}=\text{C}$. При этом свободные гидроксильные группы $\text{O}-\text{H}$ и, соответственно, межмолекулярные водородные связи в антивирусно активных молекулах отсутствуют.

Литература:

1. Hallowell B. Guttering J. M. C. Free Radicals in Biology and Medicine. 3rd ed. Oxford, Clarendon Press, 1999. - 936 p.
2. Толсторожев Г.Б., Скорняков И.В., Бельков М.В., Шадыро О.И., Ксензова Г.А. Сорокин В.Л. Внутримолекулярные водородные связи в молекулах фенолазометинов. Оптика и спектроскопия. 2014, т. 117, № 1, С. 47-52.

ИК ФУРЬЕ-СПЕКТРОСКОПИЯ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ БЕНЗАЛЬДЕГИДОВ

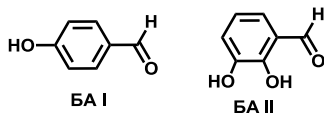
Толсторожев Г.Б.¹, Бельков М.В.¹, Шадыро О.И.², Самович С.Н.²,
Бринкевич С.Д.²

¹Институт физики НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Гидроксированные производные бензальдегида (БА) широко распространены в природе, малотоксичны и, как следствие, перспективны для применения в медицинской практике. Установление их фундаментального и прикладного значений для биомедицины представляет собой вопрос первостепенной значимости. Комплексные исследования производных БА с использованием методов ИК Фурье-спектроскопии позволяют выявить конкретные взаимосвязи «структура – ИК спектр – антивирусная активность».

В экспериментах на клеточных культурах ранее было установлено, что соединение БА I не активно в отношении вируса герпеса простого, а БА II – обладает таковой активностью.



ИК спектры 10^{-3} М растворов производных БА в CCl_4 регистрировались на Фурье-спектрометре NEXUS при спектральном разрешении 2 см^{-1} с усреднением 256 сканирований. На рис. 1 в области валентных колебаний $\text{C}=\text{O}$ альдегидной группы представлены ИК спектры растворов и кристаллов производных БА.

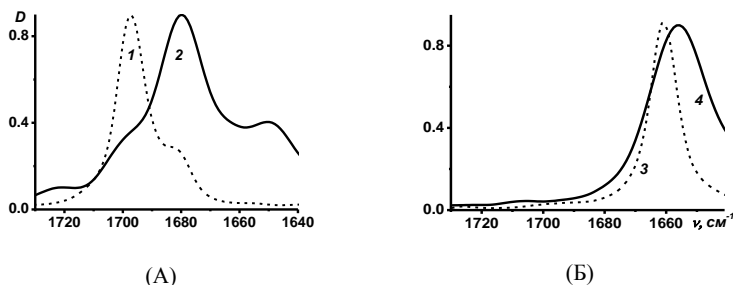
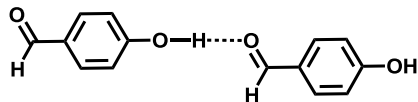


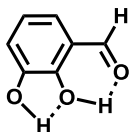
Рисунок 1 – Обзорные ИК спектры раствора (1) и кристалла (2) БА I (А), а также раствора (3) и кристалла (4) БА II (Б) в области валентных колебаний $\text{C}=\text{O}$

На двух конкретных примерах ниже рассмотрим спектральные признаки антивирусной активности молекул БА.

Как показал анализ [1], наличие в ИК Фурье-спектре неактивного БА I полосы с $\nu_{\text{max}} = 1698 \text{ см}^{-1}$ (кривая 1) обусловлено тем, что группы $\text{C}=\text{O}$, обладая свойствами акцептора, взаимодействуют с группами OH как с донорами протона. В ИК-спектре БА I проявляются только межмолекулярные водородные связи $\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}=\text{C}$, внутримолекулярные водородные связи отсутствуют и не регистрируются [1]:



В ИК спектре раствора активного БА II регистрируется полоса поглощения «связанных» колебаний $\text{C}=\text{O}$ с $\nu_{\text{max}} = 1660 \text{ см}^{-1}$ (кривая 3). В области «свободных» колебаний $\text{O}-\text{H}$ и $\text{C}=\text{O}$ поглощение отсутствует. На основании этих данных сделан вывод [1], что в активных молекулах БА II образуются только внутримолекулярные водородные связи:



Таким образом, на основе анализа ИК Фурье-спектров производных бензальдегида оказывается возможным выявлять спектральные признаки, которые связаны с антивирусной активностью. Между процессами образования водородных связей в молекулах бензальдегидов и наличием у них антивирусных свойств имеется эмпирическая взаимосвязь. Если в молекулах производных бензальдегида возникают только межмолекулярные водородные связи типа $O-H \cdots O=C$, их антивирусная активность не проявляется. Для проявления противовирусной активности необходимо, чтобы в бензольном кольце производных бензальдегида присутствовали незамещенные гидроксильные группы, и эти группы участвуют в образовании внутримолекулярных водородных связей как типа $O-H \cdots O$, так и $O-H \cdots O=C$ типа.

Литература:

1. Толсторожев Г. Б., Бельков М.В., Шимко А.Н., Шадыро О.И., Бринкевич С.Д., Самович С.Н. Инфракрасные спектры и водородные связи биологически активных бензальдегидов. Журн. прикладной спектроскопии. – 2013. – Т. 80, № 4. – С. 524–531.

ВОЗДЕЙСТВИЕ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ НА ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Тюркина Е.П.¹, Лисовская А.Г.², Шадыро О.И.², Кисель М.А.³,
Демидчик В.В.¹

¹Кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений, биологический факультет, Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

²Кафедра радиационной химии и химико-фармацевтических технологий, химический факультет, Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

³Институт биоорганической химии, НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Генерация активных форм кислорода (АФК) сопровождает реакцию растительной клетки на практически любой стресс-фактор. АФК совместно с цитоплазматическим кальцием обеспечивают кодирование и усиление стресс-сигналов, инициируя генетические и метаболические программы стрессоустойчивости. Интенсивная продукция АФК, в частности, гидроксильного радикала ($OH\bullet$), инициирует процессы запрограммированной клеточной гибели (ЗКГ), обеспечивая «реакцию гиперчувств-

вительности» при патогенной атаке. В случае абиотических воздействий, таких как засоление, ОН•-индуцируемое окислительное повреждение и ЗГК оказывают на организм растения негативное воздействие, выступая одной из ключевых причин его гибели. Общепризнанным считается, что возможность контроля данных процессов лежит в основе создания новейших средств повышения стрессоустойчивости и продуктивности высших растений. Настоящее исследование было направлено на установление неизученной ранее роли экзогенного Ca^{2+} , являющегося доступным с точки зрения агротехнологий протекторным агентом, в развитии ОН•-индуцируемой модификации плазматической мембраны растительной клетки на ранних стадиях развития солевого стресса. Объектом исследования являлась фракция фосфолипидов плазматической мембраны клеток корня *Triticum aestivum* (L.), а также выделенные из растительного материала фосфатидилхолин и фосфатидилсерин. В работе были адаптированы методики детектирования продуктов ОН•-индуцируемого окисления липидов плазматической мембраны клеток корня высших растений при помощи аналитических систем UV-vis, MALDI TOF и LC-MS. В результате проведенных опытов было показано, Ca^{2+} не влияет на окисление фосфатидилхолина, в то время как высокие уровни NaCl затормаживают этот процесс. Анализ изменения липидного состава плазматических мембран при помощи MALDI TOF и LC-MS продемонстрировал, что Ca^{2+} модифицирует ответ липида на гидроксильные радикалы. В частности, наблюдается уменьшение количества окисленных и лизоформ липидов, а также ослабление окисления фосфатидилсерина. Эффект Ca^{2+} может быть связан с торможением процессов окислительной фрагментации липидов, так как проявляется для липидов, наиболее подверженных данным превращениям. Таким образом, в работе подготовлена научно-теоретическая база для исследования и практического использования протекторного влияния Ca^{2+} на окислительное повреждение липидов мембран растений при стрессе, охарактеризовано влияние данных ионов на перекисное окисление липидов и общие показатели липидома.

АНТИОКСИДАТНЫЕ СВОЙСТВА СИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА GmPep890

Филиппова Г.Г., Варакса Т.С., Юрин В.М.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

В устойчивости растений к действию стрессовых факторов важная роль принадлежит эндогенным элиситорам пептидной природы. К настоящему времени у высших растений идентифицировано несколько семейств пептидных элиситоров – системины, инцептины, NyrSys, SubPeps, AtPeps, GmPep890, GmPep 914 и др. [1, 2, 3]. Эти соединения способны индуцировать устойчивость растений к стрессорам, активируя экспрессию ряда защитных генов, включая ген цитохрома P₄₅₀, гены хитиназы и халконсинтазы, синтез жасмоновой и салициловой кислот, этилена, а также летучих фитоалексинов [1, 3]. Имеются данные, что пептидные элиситоры могут индуцировать синтез фенольных соединений (ФС). Известно, что ФС играют важную роль в защитном ответе растений на неблагоприятные воздействия и участвуют как в конститутивном, так и в индуцированном иммунитете растений [4].

Целью данной работы было изучение антиоксидантных свойств пептида GmPep890, синтезированного в Институте биоорганической химии НАН Беларуси.

Объектом исследования служили проростки гороха, выращенные в водной культуре рулонным методом. 14-дневные проростки опрыскивали водным раствором пептида в диапазоне концентраций 10^{-13} – 10^{-9} М.

Установлено, что обработка проростков гороха пептидом GmPep890 через 24 часа приводит к увеличению суммарного уровня растворимых ФС. Наиболее выраженное действие пептид оказывает в концентрации 10^{-12} М, повышая содержание ФС на 20% по сравнению с контролем. Активация синтеза фенольных соединений под действием пептида может быть вызвана запуском сигнальных систем, приводящих к увеличению окислительных процессов в растениях, либо к повышению скорости лигнификации клеточных стенок. Анализ содержания гидроксикоричных кислот, являющихся предшественниками в биосинтезе лигнина, показал, что пептид не оказывает существенного влияния на данный показатель. Однако установлено, что пептид приводит к увеличению содержания флавоноидов и антиоксидантной активности проростков, которую оценивали по реакции с DPPH (дифенил-2-пикрилгидрозилом). В наибольшей степени данные показатели, как и в опытах с определением ФС, повышаются при обработке растений пептидом в концентрации 10^{-12} М. На основании полученных результатов можно заключить, что обработка растений гороха пептидом GmPep890 в концентрации 10^{-12} М приводит к

запуску сигнальных путей, повышающих устойчивость растений к стрессовым воздействиям.

Для подтверждения данного предположения проростки, предварительно обработанные пептидом, подвергали действию оксидативного стресса, путем добавления в наружный раствор 10^{-3} М CuCl_2 , 10^{-3} М H_2O_2 и 10^{-3} М аскорбиновой кислоты. Стрессовое воздействие приводило к изменению морфометрических характеристик проростков гороха. Отмечалось снижение сырой массы надземной части и корневой системы на 35% и 18% по сравнению с контролем, соответственно, что, вероятно, связано с активацией окислительных процессов в растениях. Негативное действие оксидативного стресса на обработанные пептидом проростки проявлялось в гораздо меньшей степени: масса надземной части снижалась на 13%, а корней на 15% по сравнению с контролем. Согласно современным представлениям, стрессовый ответ растений включает ряд неспецифических реакций, среди которых одной из ключевых является активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) [5]. Анализ содержания первичных продуктов ПОЛ позволил установить, что пептид приводит к снижению уровня оксодиеновых и триеновых конъюгатов жирных кислот в листьях проростков гороха, подвергнутых действию оксидативного стресса.

Полученные данные свидетельствуют о том, что синтетический пептид GmPer890 в концентрации 10^{-12} М вызывает индукцию защитных механизмов и приводит к снижению скорости окислительных процессов в растениях, подвергнутых стрессовому воздействию.

Литература:

1. Schmelz, E.A. [et al] // Plant Physiol. –2007. –V.144. –P.793-805.
2. Yamaguchi, Y., Huffaker A. // Curr. Opin. Plant Biol. –2011. –V.14. –P.351–357.
3. Albert, M. // J of Experimental Botany. –2013. –V. 64. –P. 5269-5279.
4. Gatehouse, J.A. // New Phytologist. –2002. –V. 156. – P. 145-169.
5. Чиркова, Т.В. Физиологические основы устойчивости растений / Т.В. Чиркова. – СПб: Изд-во СПб ун-та, –2002. – 244 с.

ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ N-(3,5-ДИ-ТРЕТ-БУТИЛ-2-ГИДРОКСИФЕНИЛ)АЦЕТАМИДА ДЛЯ МЫШЕЙ

Фроленков К.А.

РУП «Белмедпрепараты», Минск, Беларусь

Появление и достаточно широкая распространенность ацикловир-резистентных штаммов герпеса порождает необходимость создания новых подходов и новых средств борьбы с герпетической инфекцией, основанных на поиске новых мишеней подавления репродукции вируса герпеса. В скрининговых исследованиях было показано, что такими свойствами могут обладать N-ацильные производные 2-амино-4,6-ди-трет-бутилфенола, среди которых перспективным в качестве основы для разработки противогерпетических средств является N-(3,5-ди-трет-бутил-2-гидроксифенил)ацетамид (Е.И.Бореко, О.И.Шадыро и соавт.)

Цель настоящей работы – определение острой токсичности и переносимости N-(3,5-ди-трет-бутил-2-гидроксифенил)ацетамида (соединение N-1) в экспериментах на мышах обоего пола в соответствии с требованиями, предъявляемыми к доклиническому испытанию новых лекарственных средств.

Опыты проведены на 40 белых беспородных самцах и самках мышей массой 19-23 г в возрасте 2-3 месяцев. Животные содержались на подстилке из опилок лиственных пород деревьев в соответствии с правилами группового содержания. Доступ к воде и корму был свободным, световой режим естественным. Пищевой рацион включал зерно (овес, пшеница в избытке), овощи, стандартные брикеты, содержащие минеральные пищевые ингредиенты и витамины. Перед экспериментом животные выдерживали в течение 2 недель в карантинных условиях при температуре 21-24 °С, влажности 50-70% и естественном световом дне.

Для опыта отбирали здоровых особей с чистым и гладким шерстным покровом и нормальной поведенческой активностью. Из общей партии отобранных животных формировали равноценные группы по 10 мышей на дозу (5 животных/пол), которые рассаживали в отдельные клетки. Накануне эксперимента животных адаптировали к условиям лаборатории при стандартных климатических параметрах (температура 22-24 °С, влажность 50-70 %) и неограниченном доступе к корму и воде.

Соединение N-1 вводили однократно интрагастрально на 1% крахмальном геле в дозах 1000, 3000, 6000 мг/кг, которые примерно эквивалентны дозам, составляющим 83, 250 и 500 мг/кг массы для человека при изодозном расчете на единицу поверхности тела. Контрольные мыши в

качестве плацебо получали растворитель в объеме 10 мл/кг. Наблюдение за животными проводили непрерывно на протяжении первых 6 часов после введения вещества. В последующий период состояние животных отмечали дважды в сутки в течение 14 дней. Оценивали 14-суточную летальность, общее действие (поведение, общее состояние, возбудимость, спонтанная двигательная активность животных), мышечный тонус, нарушения позы и координации движений, реакцию на звуковые и болевые стимулы, роговичный рефлекс, состояние вегетативных функций (наличие пилоэрекции, птоза, экзофтальмии, нарушений дефекации и диуреза), определяли динамику массы тела при ежедневном взвешивании, проводили тесты на нейротоксичность, гематологический анализ крови на 15-сутки (содержание эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов, нейтрофилов, тромбоцитов), макроскопическое исследование внутренних органов при вскрытии животных, подвергнутых эвтаназии.

Установлено, что соединение N-1 при однократном введении внутрь в дозах до 3000 мг/кг, превышающих до 250 раз эквивалентные дозы для человека, не вызывает обнаружимых токсических эффектов у мышей. При дозе 6000 мг/кг у мышей развивались явления гиподинамии и гипокинезии, исчезающие в течение 3-7 часов после введения. Гибели животных, нарушений весового прироста, изменений гематологических показателей, вегетативного статуса и признаков нейротоксичности не обнаруживалось в течение последующих 14 дней наблюдения. Учитывая полученные данные, максимально переносимая доза (МПД) соединения N-1 при введении внутрь для мышей может быть принята равной 6000 мг/кг, что позволяет отнести соединение N-1 к практически нетоксичным веществам (4-класс опасности).

ОБЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ И ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ N-(3,5-ДИ-ТРЕТ-БУТИЛ-2-ГИДРОКСИФЕНИЛ)АЦЕТАМИДА ДЛЯ КРЫС

Фроленков К.А.¹, Дубовик Б.В.²

¹РУП «Белмедпрепараты», Минск, Беларусь

²Беларусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

В скрининговых исследованиях было показано, что N-ацильные производные 2-амино-4,6-ди-трет-бутилфенола обладают выраженными антигерпетическими свойствами (Е.И. Бореко, О.И. Шадыро и соавт.). Наиболее перспективным для дальнейшего изучения среди соединений этого класса является N-(3,5-ди-трет-бутил-2-гидроксифенил)ацетамид, который эффективен в опытах на клеточных культурах *in vitro* и на мо-

дели герпетического поражения кожи в опытах на мышах (Е.И. Бореко, О.И. Шадыро и соавт.).

Цель настоящей работы являлось изучение общего действия, острой токсичности и переносимости N-(3,5-ди-трет-бутил-2-гидроксифенил)-ацетамида (соединение N-1) в экспериментах на крысах в соответствии с требованиями, предъявляемыми к доклиническому испытанию новых лекарственных средств.

Эксперименты проведены на 40 крысах Вистар, массой 110-130 г (самцы) и 100-120 г (самки), содержащихся на стандартном пищевом рационе. Перед опытом животные взвешивались и методом случайного выбора распределялись на группы, включающие по 5 особей каждого пола. Соединение N-1 вводили интрагастрально в дозах 1000, 1000 и 3000 мг/кг, составляющих соответственно 50, 167 и 500 мг/кг для человека в расчете на единицу поверхности тела.

Наблюдения за животными проводили в течение 14 суток с регистрацией выживаемости, общего неврологического статуса (по Irvin) и весового прироста. Нейротоксичность оценивали по состоянию простых и сложных моторных рефлексов, изменению двигательной активности, абдоминальному тону, состоянию мышечной силы (хватательному рефлексу), наличию каталептоидных явлений, пилоэрекции, гипотермии, состоянию дыхания, наличию мидриаза или миоза, рефлексу испуга, реакции на фиксацию, состоянию диуреза, дефекации, саливации. По окончании 2-недельного наблюдения исследовали гематологические показатели – содержание эритроцитов, лейкоцитов, нейтрофилов, тромбоцитов в периферической крови, оценивали состояние диуреза, проводили гексеналовый тест на обезвреживающую функцию печени. На 16-е сутки животных забивали эфирным наркозом и подвергали аутопсии с целью патологоанатомического исследования внутренних органов.

Установлено, что соединение N-1 оказывает незначительное седативное действие, начиная с дозы 3000 мг/кг. Эта реакция проявляется снижением спонтанной двигательной активности и исследовательского поведения на протяжении 3-7 часов после введения вещества. В дальнейшем на протяжении 14 суток наблюдения изменений поведения, неврологического статуса и состояния вегетативных функций у подопытных крыс не было выявлено. Во всех испытанных дозах однократное введение соединения N-1 не оказывало существенного влияния на жизнедеятельность животных. При 2-недельном наблюдении у подопытных крыс отмечался нормальный весовой прирост, не выявлено признаков нейротоксичности по моторно-координационному тесту, существенных изменений гематологических показателей, не отмечено отклонений в состоя-

нии печени, судя по гексеналовой пробе. На аутопсии животных, погибших в конце наблюдения эфирным наркозом, не найдено патологоанатомических признаков токсичности вещества. N-(3,5-ди-трет-бутил-2-гидроксифенил)ацетамид относится к веществам 4 класса опасности при введении внутрь (ГОСТ 12.1.007-76 "Вредные вещества").

Обобщая результаты исследований общего действия изучаемого соединения в опытах на грызунах следует заключить, что N-(3,5-ди-трет-бутил-2-гидроксифенил)ацетамид – практически безопасное и хорошо переносимое вещество при введении внутрь. Незначительные признаки токсического действия соединения у мышей (преходящая гипокинезия) отмечаются при дозе 6000 мг/кг. У крыс аналогичные явления отмечены при дозе 3000 мг/кг. Летальных исходов в обоих случаях не наблюдалось. Через 14 дней наблюдения у животных, получивших N-(3,5-ди-трет-бутил-2-гидроксифенил)ацетамид в дозах до 6000 мг/кг (мыши) и 3000 мг/кг (крысы), не выявлено нарушений поведения, моторно-координационных дисфункций, отклонений в составе крови, показателей гексеналовой пробы, характеризующих гепатотоксичность, не отмечалось патоморфологических признаков повреждения внутренних органов.

Учитывая, что потенциальная терапевтическая доза для человека при накожном применении ниже испытанных доз больше, чем в 1000 раз, реального риска системного токсического действия N-(3,5-ди-трет-бутил-2-гидроксифенил)ацетамида при наружном применении не существует.

ВЛИЯНИЕ БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЯ СЕНСИБИЛИЗАТОРОВ НА ФОТООКИСЛИТЕЛЬНОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ

Хлудеев И.И.¹, Пашковская И.Д.², Зорин В.П.¹

¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

²РНПЦ неврологии и нейрохирургии, Минск, Беларусь

В основе метода фотодинамической терапии (ФДТ) лежит сочетанное действие фотосенсибилизаторов (ФС) и видимого света. При поглощении квантов света молекулы ФС переходят в возбужденное состояние и могут в ходе фотохимических реакций генерировать активные формы кислорода (АФК), способные повреждать различные типы биомолекул. Основными механизмами реализации лечебного эффекта ФДТ считаются фотодинамическое повреждение клеток и васкулярной системы патологических тканей [1]. Однако в ходе ФДТ воздействию АФК подвергаются

ся не только клетки ткани-мишени, но и компоненты циркулирующей в ее сосудистой системе крови. Таким образом, всю процедуру ФДТ можно рассматривать как генерализованный окислительный стресс, затрагивающий все компоненты крови – как форменные элементы, так и белки сыворотки крови (БСК). В литературе окисление БСК рассматривается как важный фактор, играющий сигнальную и регуляторную роль в контроле различных патологий [2].

Цель данной работы – исследование процессов повреждения БСК при фотовоздействии, сенсibilизированном хлорином e_6 (Хл e_6) и его диметиловым эфиром (ДМЭ).

Ранее методами гель-хроматографии и ультрацентрифугирования в градиенте плотностей нами было установлено (таблица), что в сыворотке крови все молекулы Хл e_6 и ДМЭ находятся в составе комплексов с транспортными белками – сывороточным альбумином (САЧ) и липопroteинами высокой (ЛВП) и низкой плотности (ЛНП).

ФС	Доля ФС, связанного с белками сыворотки крови, %		
	САЧ	ЛВП	ЛНП
Хл e_6	70	11	19
ДМЭ	22	38	40

В данной работе проведено сравнительное исследование способности ФС индуцировать фотоповреждение белков. При фотодинамическом воздействии наблюдается окисление аминокислотных остатков САЧ. Это подтверждается снижением интенсивности тирозин- и триптофан-зависимой флуоресценции белков. При гель-хроматографических исследованиях показано, что в образцах САЧ, подвергнутых фотооблучению в присутствии Хл e_6 , наблюдалось смещение положения максимума и уширение белкового пика в сторону меньших объемов исключения, что свидетельствует о росте размеров белковых молекул, возможно, вследствие образования димеров и олигомеров САЧ в процессе ФДТ. Указанные эффекты возрастали при увеличении интенсивности фотодинамического воздействия. Процессы фотоокисления липопroteинов исследовали на модельных смесях ЛВП и ЛНП с альбумином, оценивая эффективность перекисного окисления липидов (ПОЛ) по росту концентрации малонового диальдегида в образцах после фотодинамического воздействия. Установлено, что накопление продуктов ПОЛ в образцах, подвергнутых обработке, зависит как от используемого ФС, так и от белкового состава образцов. ДМЭ инициирует процессы ПОЛ более эффективно, чем Хл e_6 , при фотодинамическом воздействии на модельные растворы как ЛВП+САЧ, так и ЛНП+САЧ. Выход продуктов ПОЛ при фотосенсibilизированной обработке ЛНП выше в сравнении с ЛВП. Таким образом,

наблюдается соответствие между эффективностью ПОЛ различных типов липопротеинов и относительным количеством связавшегося с данными липопротеинами сенсibilизатора.

Полученные результаты показывают, что в процессе фотодинамического воздействия происходит повреждение молекул САЧ и липопротеинов. Интенсивность повреждения зависит не только от условий фотодинамического воздействия (концентрации ФС, дозы поглощенной световой энергии), но и от процессов взаимодействия ФС с конкретными белками. Хорошо известно, что модифицированные БСК могут взаимодействовать с иммунокомпетентными клетками крови, активируя иммунную систему [3]. Установленные нами процессы окисления липопротеинов и САЧ необходимо учитывать при рассмотрении механизмов и прогнозировании эффективности ФДТ.

Литература:

1. Photophysics and photochemistry of photodynamic therapy: fundamental aspects / K. Plaetzer [et al.] // *Laser. Med. Sci.* – 2008. Vol. 1. – P. 1–15.
2. Z. Cai, L.-J. Yan. Protein oxidative modifications: beneficial roles in disease and health // *J. Biochem. Pharm. Res.* 2013. – Vol. 1. – P. 15–26.
3. The influence of photodynamic therapy on the immune response / D. Nowis [et al.] // *Photodiag. Photodyn. Ther.* 2005. – Vol. 2. – P. 283–298.

К ВОПРОСУ О ФОРМИРОВАНИИ ПРОФЕССИОНАЛЬНО-ИНОЯЗЫЧНОЙ ПОДГОТОВКИ СТУДЕНТОВ ХИМИЧЕСКИХ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СПЕЦИАЛЬНОСТЕЙ В РАМКАХ КОМПЕТЕНТНОСТНОГО ПОДХОДА

Царенкова В.В., Шпановская С.И.

Белорусский государственный технологический университет. Минск, Беларусь

Идеи компетентностного подхода, зародившиеся еще в 1960–1970 гг. прошлого столетия, доминируют в мировом образовании и по сей день, что объясняется многими объективными явлениями и процессами: состояние рынка труда, накопление огромного количества фактических знаний о мире и их постоянное обновление и т. п.

Согласно исследованиям последних лет, основная задача иноязычной подготовки состоит в формировании иноязычной коммуникативной компетенции; которая представляет собой многокомпонентное явление и включает в себе три аспекта: лингвистический, социолингвистический и прагматический. Лингвистические компетенции включают знание лексики, фонологии, синтаксиса, а также знания, связанные с другими аспектами языковой системы. Социолингвистические компетенции связаны с

социокультурными условиями использования языка. Сюда относится восприимчивость к правилам поведения в обществе. Прагматические компетенции связаны с функциональным использованием языковых средств в речевой деятельности.

Для реализации компетентного подхода при преподавании иностранного языка студентам химических специальностей предлагаются самые разные методы и приемы. Естественно, что большинство из них предполагают работу с профессионально значимой информацией, представленной на иностранном языке, или имитируют будущую профессиональную деятельность. Чтобы научить студентов выбирать и использовать адекватные языковые формы и средства в зависимости от цели и ситуации общения необходимо использовать систему коммуникативных, условно-коммуникативных и некоммуникативных упражнений.

Как отмечают специалисты, даже некоммуникативные упражнения направлены на ознакомление студентов с лексикой, связанной с их профессиональной деятельностью. К числу таких упражнений можно отнести задания на подбор соответствующего определения или объяснение термина или понятия. Задания на составление или продление фраз по образцу также относятся к числу некоммуникативных, однако они направлены на автоматизацию действий студентов с лексическими единицами, т.е. способствуют развитию коммуникативно-речевой компетенции.

Наиболее эффективными являются условно-коммуникативные и коммуникативные упражнения. К их числу относятся задания на определение верного и неверного высказывания, а также упражнения на заполнение пропусков активными словами из текстов, обобщение информации и высказывание собственного отношения к проблеме.

Таким образом, развивая необходимые профессиональные компетенции выпускника вуза, решается одна из важнейших проблем современного высшего образования в эпоху глобализации – подготовка специалистов, готовых к социальной и академической мобильности и компетентных в профессиональном отношении.

Литература:

1. Алещанова И. В., Фролова Н. А. Способы развития профессиональной иноязычной компетенции // Современные проблемы науки и образования. – Москва, 2011. – № 6.
2. Кручинина Г.А. Формирование профессионально-иноязычной компетентности студентов инженерно-строительных специальностей в контекстном обучении // Нижний Новгород: ННГАСУ, 2008.
3. Stanley G. Blogging for ELT [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.teachingenglish.org.uk/resources/>. – Дата доступа: 03.03.2015

МОДИФИКАЦИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ФЛАВОЛИГНАНОВ

Чубарова А.С., Капустин М.А., Курченко В.П.

*Белорусский государственный университет, лаборатория прикладных проблем
биологии, Минск, Беларусь*

Введение. В здоровом организме количество образующихся свободных радикалов регулируется антиоксидантными системами. Избыток образующихся реакционно-способных молекул оказывает токсическое влияние, которое проявляется в модификации и окислении белков, жиров, углеводов и нуклеиновых кислот.

В состоянии окислительного стресса прием антиоксидантных препаратов снижает повреждение организма и предотвращает развитие серьезных заболеваний. Эти свойства и возможность широкой применимости обуславливают, в настоящее время, активную работу по поиску веществ, обладающих антиоксидантными свойствами, а также по изучению способов усиления антиоксидантной активности изученных соединений. Известно, что среди эффективных антиоксидантов одну из лидирующих позиций занимают природные полифенолы растительного происхождения, к которым относятся флавоноиды, и в частности, флаволигнаны.

Флаволигнаны – группа биологически активных веществ, получаемая из плодов расторопши пятнистой (*Silybum marianum* L. Gaertn.), известная под названием силимарин. В состав силимарина входят: силибинин, силикрестин и силидианин. Благодаря наличию в молекуле флаволигнанов флавоноидной и фенилпропанодной структур, они также способны проявлять антиоксидантную активность. Целью нашего исследования являлось изучение возможности модификации антиоксидантных свойств флаволигнанов путем комплексообразования с ионами меди (II).

Материалы и методы.

Динамику процесса комплексообразования контролировали спектрофотометрически на приборе Cary 50 (Varian, Австралия). Определение стехиометрических соотношений флаволигнанов и ионов меди (II) в составе комплекса проводили по методу Остромысленского-Джоба и по методу Бента-Френча [1]. Константы образования комплексов вычисляли по уравнению Накагуры [2]. Антирадикальную активность оценивали в модельной системе восстановления радикал-катиона ABTS^{•+} [3]. Антирадикальную активность выражали в стандартных величинах IC₅₀ и TEAC.

Результаты и обсуждения.

По результатам экспериментов было показано, что в метаноле флаволигнаны: силибинин, сили-кристин и силидианин, образуют комплексные соединения с ионами меди (II) в соотношении 3:2. Ком-плексообразование сопровождается изменением спектральных свойств мо-лекул лигандов. Так, в спек-

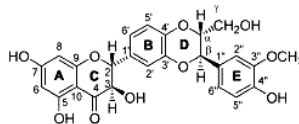


Рисунок 1 – Структурная формула силибина А

трах поглощения исходных флаволигнанов в области полосы поглощения I происходит образование новой зоны поглощения электромагнитного излучения в диапазоне длин волн 350–420 нм с максимумом на 380 нм. Это дает основания полагать, что в хелатировании ионов меди (II) участвуют гидроксильная и оксогруппа флаволигнанов в 3 и 4 положениях кольца С (рисунок 1). Структурные особенности этих молекул (отсутствие двойной связи в кольце С и катехольной группы в кольце В) обуславливают возможность формирования комплексов с высокой стехиометрией. Соотношение метал:лиганд в комплексе составляет 2:3.

Анализ величин ТЕАС и IC_{50} показал, что у силибинина комплекссообразование с ионами меди (II) приводило к повышению антиоксидантной активности по сравнению с исходным веществом. В результате взаимодействия с ионами меди (II) силикристина и силибинина статистически значимых изменений антиоксидантной активности не наблюдалось.

Таким образом, можно сделать вывод, что из исследованных флаволигнанов, входящих в состав силимарина, усиление антиоксидантной активности в результате комплекссообразования с ионами меди (II) наблюдается только у силидианина. Комплекс-сообразование приводит к снижению окислительно-восстановительного потенциала силидианина, что объясняет более высокую антиокси-дантную активность комплекса по сравнению со свободным лигандом.

Литература:

1. М.И. Булатов, И.П. Калинин Практическое руководство по фотометрическим методам анализа. – 5-е изд. – Ленинград: «Химия», 1986. – 432 с.
2. Лапочкин, О.В. Получение и изучение комплексных соединений ванадила с аминокислотами: глицин, α -аланин, β -аланин; автореф. дис. ...канд. фарм. наук: 15.00.02. – Пятигорск, 2008. – 22 с.
3. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay / R. Re [et al.] // Free Radical Biology and Medicine. – 1999. – Vol. 26, № 9/10. – P. 1231–1237.

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА НА АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ ЗАЩИТЫ И ПОЛ БУРОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ КРЫС

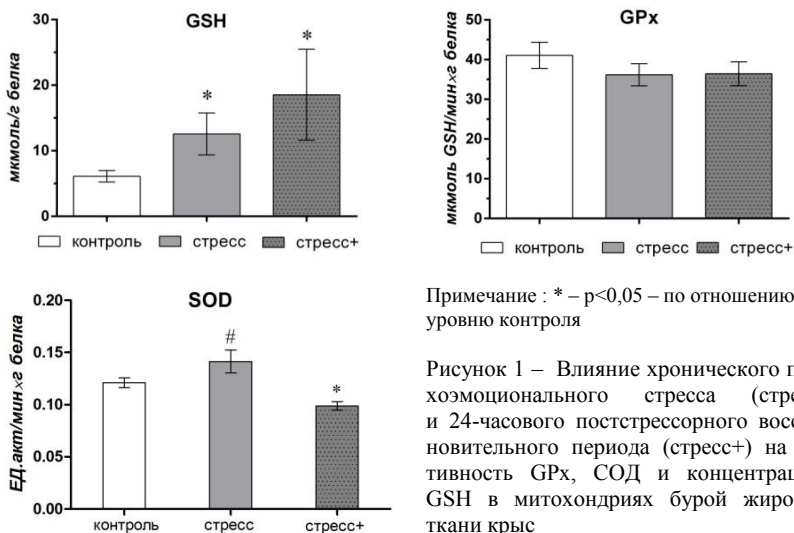
Шуриберко А.В., Чумаченко С.С., Надольник Л.И.

*Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси,
Гродно, Беларусь*

Бурая жировая ткань (БЖТ) хорошо развита у новорожденного человека и животных, впадающих в спячку, основной её функцией является термогенез. Данный вид ткани не имеет крупных компактных скоплений и расположен, как правило, возле жизненно важных органов – крупных сосудов, почек, сердца. В отличие от адипоцитов белого жира, адипоциты БЖТ имеют множество липидных капель и большое количество митохондрий, которые экспрессируют специфический разобщающий белок UCP1. Благодаря данному белку происходит разобщение процессов окислительного фосфорилирования, UCP1 шунтирует протонный градиент, в результате энергия выделяется в виде тепла без синтеза АТФ. Активация БЖТ, например холодом, приводит к значительному повышению потребления ею кислорода, необходимого для окисления жирных кислот в митохондриях. Поскольку митохондрии являются основными источниками свободных радикалов в клетке, увеличение специфической функциональной активности митохондрий БЖТ представляет значительный интерес для изучения механизмов избыточной продукции АФК. Здесь важным представляется наличие протонофорных эффектов, прежде всего UCP1 белка, снижающего мембранный потенциал, что может оказывать антиоксидантное действие. Например, снижение мембранного потенциала на 10мВ уменьшает выработку АФК на 70%, потому считается, что мягкое разобщение является естественной антиоксидантной защитой БЖТ. Помимо этого, существуют и другие системы АО защиты, – такие как СОД, каталаза, пероксидазы и низкомолекулярные антиоксиданты (витамин С, Е, глутатион), которые способны нейтрализовать АФК.

Цель работы: исследовать эффекты хронического психоэмоционального стресса на показатели АО защиты, активность ПОЛ и функциональную активность митохондрий БЖТ. Показано, что при воздействии ежедневного 20-минутного психоэмоционального стресса в течение 28–30 суток наблюдается достоверное увеличение концентрации глутатиона в митохондриях БЖТ на 106% (рисунок 1); через 24 часа восстано-

вительного периода отмечается увеличение данного показателя на 204%, что, возможно, связано с активацией его транспорта.



Уровень глутатионпероксидазы при этом не изменялся. Учитывая, что GSH играет важнейшую роль в АОС защиты митохондрий, обнаруженный эффект можно расценить как важнейшую адаптационную реакцию БЖТ на стресс.

Кроме того, важно отметить незначительную активацию СОД в группе стресс, и её снижение через 24 часа восстановительного периода ниже контрольных значений. Эти изменения согласуются с повышением концентрации ТБКРС в митохондриях БЖТ на 107% (рисунок 2).

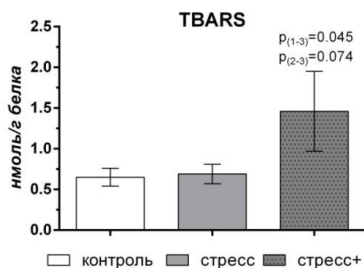


Рисунок 2 – Влияние хронического психоэмоционального стресса (стресс) и 24-часового постстрессорного восстановительного периода (стресс+) на концентрацию ТБКРС в митохондриях бурой жировой ткани крыс

Полученные данные свидетельствуют, что в условиях хронического психоэмоционального стресса в митохондриях БЖТ отмечается активация АОС защиты, что является следствием адаптационных реакций. Однако механизмы активации ПОЛ в постстрессорный период представляют определенный интерес: – связан ли данный эффект со снижением активности процессов разобщения и функцией UCP-1 белка, или это является следствием нарушения функции АОС в постстрессорный период.

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ СУПЕРОКСИД-ДИСМУТАЗЫ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ МОЛЛЮСКА *LYMNAEA STAGNALIS*

ЭльРахал А., Маслова Г.Т., Сидоров А.В.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Одной из основных теорий старения является свободнорадикальная [1], связывающая угасание жизненных функций с накоплением в организме активных форм кислорода. Старение, как правило, ассоциируется с изменением когнитивных функций мозга, а следовательно свободные радикалы кислорода могут выступать как регуляторные молекулы, определяющие функциональную активность нервных центров [2]. Многие беспозвоночные, в том числе и моллюски, широко используются в исследованиях по нейробиологии старения, однако данные по состоянию системы антиокислительной защиты применительно к их нервной ткани, практически не представлены в научной литературе.

Работа выполнена на препаратах изолированной центральной нервной системы (ЦНС), полученных от моллюсков *Lymnaea stagnalis* (прудовик обыкновенный). Животные были разделены на 3 условные возрастные группы: «молодые», $n = 10$ (длина раковины $3,3 \pm 0,01$ см; масса $2,3 \pm 0,2$ г; расчётный возраст 32 ± 2 нед.), «зрелые», $n = 15$ (длина раковины $4,1 \pm 0,1$ см; масса $5,1 \pm 0,3$ г; расчётный возраст 46 ± 4 нед.) и «старые», $n = 15$ (длина раковины $4,9 \pm 0,1$ см; масса $8,9 \pm 0,3$ г; расчётный возраст 53 ± 4 нед.). Определение активности супероксиддисмутазы (СОД, КФ 1.15.1.1.) проводили в гомогенатах ЦНС индивидуально по каждому моллюску, спектрофотометрическим методом, основанным на оценке скорости аутоокисления флавоноида кверцетина в 2-х повторях по каждой пробе [3]. Количество общего белка определяли по методу Бредфорд [4]. Исследования выполнены с использованием спектрофотометра Cary 50 (Variant Inc., Австралия). Экспериментальные данные представлены в виде среднее \pm ошибка среднего.

Установлено, что с возрастом отмечается снижение активности СОД в ЦНС *Lymnaea stagnalis* на фоне отсутствия статистически значимых изменений количества общего белка (таблица). Рассчитанный на основании представленных данных коэффициент линейной корреляции (r) между возрастом животных и супероксиддисмутазной активностью в нервной ткани выявил наличие статистически достоверной отрицательной взаимосвязи между исследованными параметрами: $r = -0,59 \pm 0,14$ (число пар сравнения $n = 35$, $t = 4,33$, $P < 0,01$). Корреляционной связи между уровнем общего белка в ЦНС и возрастом выявлено не было ($r = -0,04 \pm 0,16$; число пар сравнения $n = 40$, $t = 0,28$, $P > 0,05$).

Таблица - Активность СОД в центральной нервной системе моллюска *Lymnaea stagnalis* у животных разных возрастных групп

Показатель	Экспериментальная группа (возраст)		
	«молодые» (32±2 нед.)	«зрелые» (46±4 нед.)	«старые» (53±4 нед.)
СОД, У/мл	34,4±7,7 ($n = 8$)	15,3±1,9* ($n = 12$)	11,1±0,9* ($n = 15$)
Белок, мг/мл	43,3±3,9 ($n = 10$)	49,5±3,0 ($n = 15$)	45,1±2,0 ($n = 15$)

Примечание: * – достоверно по сравнению с группой «молодые», $P < 0,05$.

Таким образом, в центральной нервной системе моллюсков с возрастом наблюдается падение уровня антиокислительной защиты клеток. При этом увеличение свободнорадикальной нагрузки может приводить к развитию функциональных изменений в ЦНС, подтверждая идею о сигнальной роли активных форм кислорода в нервной ткани.

Работа выполнена в рамках ГПНИ «Конвергенция» (задание 3.3.03.4).

Литература:

1. Beckman K. B., Ames B. N. The free radical theory of aging matures // *Physiol. Rev.* 1998. Vol. 78, № 2. P. 547–581.
2. Hidalgo C., Carrasco M.A., Muñoz P., Núñez M. T. A role for reactive oxygen/nitrogen species and iron on neuronal synaptic plasticity // *Antioxid. Redox. Signal.* 2007. Vol. 9, № 2. P. 245–255.
3. Kostyuk V. A., Potapovich A. I. Superoxide-driven oxidation of quercetin and a simple assay for determination of superoxide dismutase // *Biochem. Int.* 1989. Vol. 19, № 5. P. 1117–1124.
4. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Anal. Biochem.* 1976. Vol. 72, № 1–2. P. 248–254.

ВЛИЯНИЕ ЦИСТЕИН-СОДЕРЖАЩИХ ПЕПТИДОВ НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ДЕФОСФОРИЛИРОВАНИЕ ГЛИЦЕРОФОСФАТА

Юркова И.Л., Шендикова Е.Н.

*Белорусский государственный университет, химический факультет,
Минск, Беларусь*

В последнее время все больше расширяются исследования пептидов, выделенных из натуральных продуктов, как потенциальных средств контроля окислительного стресса в организме с целью создания эффективных нутрицевтиков [1]. Механизм антиоксидантного действия биоактивных пептидов интенсивно исследуется, но до конца неясен [1]. Считают [1], что короткие пептиды (2-10 аминокислотных остатков) более эффективны как антиоксиданты, чем их исходные нативные белки и олигопептиды. Выявлено [1], что наличие остатков редокс-активных аминокислот (Тир, Три, Мет, Цис, Гис) является важным структурным дескриптором антиоксидантных пептидов, хотя в целом нет четкого понимания зависимости структура – активность.

Тестирование антирадикальных и антиоксидантных свойств пептидов проводится *in vitro* или *in vivo* только с учетом возможности пероксидного окисления липидов в гидрофобном слое биомембраны [2]. Однако в гидрофильной части мембраны также могут протекать свободнорадикальные процессы, а именно свободнорадикальная фрагментация липидов (СРФЛ) [3]. Процесс СРФЛ приводит к деструкции липидов с разрывом эфирных, *O*-гликозидной или амидной связей [3]. В какой мере пептиды могут влиять на развитие свободнорадикальной фрагментации липидов – не изучено.

Целью данной работы явилось изучение влияния цистеин-содержащих дипептидов (цистеинил-глицин (Цис-Гли), γ -глутамил-цистеин (Глу-Цис)), а также глутатиона (γ -глутамил-цистеинил-глицин) на протекание свободнорадикальной фрагментации глицеро-1-фосфата (ГФ). ГФ является структурным фрагментом глицерофосфолипидов и использован в качестве модельного соединения. Кроме того, ГФ представляет собой важный компонент клетки, участвующий не только в синтезе липидов, но и некоторых метаболических процессах. Глутатион, содержащийся в цитоплазме клеток в высокой концентрации (1–10 мМ), играет важную роль в поддержании баланса между оксидантами и антиоксидантами в живых организмах.

Фрагментацию ГФ, приводящую к разрыву фосфоэфирной связи в молекуле, оценивали по накоплению неорганического фосфата. Свободнорадикальные реакции в системах инициировали путем их γ -облучения или термостатирования при 37 °C с системами $\text{Fe}^{2+}/\text{Cu}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{аскорбат}$, генерирующими радикалы HO^\bullet .

При действии γ -излучения на дезаэрированные водные растворы ГФ (100 мМ) с и без добавок пептидов во всех исследованных системах количество H_2PO_4^- увеличивается линейно с поглощенной дозой в используемом интервале доз (0÷2,4) кГр. Радиационно-химический выход H_2PO_4^- в растворе ГФ без добавок составил $G = (3,29 \pm 0,24)$ молекула/100 эВ. При введении в раствор ГФ пептидов (2 мМ), выход H_2PO_4^- снижается до величины (1,27±0,19), (1,14±0,13) и (1,23±0,15) молекула/100 эВ для Цис-Гли, Глу-Цис и глутатиона, соответственно.

При действии системы $\text{Cu}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{аскорбат}$ (0,5/10/0,5 мМ) на раствор ГФ в присутствии пептидов (2 мМ) наиболее эффективно ингибировал фрагментацию субстрата Глу-Цис. Данный дипептид снижает уровень фосфат-аниона в ~3,9 раза в сравнении с контролем, глутатион – в ~3,4 раза, а Цис-Гли только в ~1,6 раза. Введение пептидов (2 мМ) в раствор ГФ (100 мМ) не однозначным образом влияет на дефосфорилирование ГФ, опосредованное системой $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{аскорбат}$ (0,5/15/0,5 мМ). Деструкция ГФ несколько усиливается в присутствии Цис-Гли и глутатиона, на что указывает увеличение концентрации H_2PO_4^- в ~1,2 раза в сравнении с контрольным образцом. Глу-Цис оказывал некоторое ингибирующее влияние только на начальном этапе исследованного временного промежутка (0÷90 мин), уровень H_2PO_4^- снижается в ~1,2 раза, далее его действием было нейтральным.

Так, в зависимости от условий генерирования радикалов HO^\bullet в системе пептиды Цис-Гли, Глу-Цис и глутатион оказывают анти- или прооксидантное влияние на свободнорадикальную фрагментацию глицерол-1-фосфата.

Литература:

1. Hettiarachchy A., Sato N.S., Marshall K., Kannan M.R. Bioactive Food Proteins and Peptides Applications in Human Health / Wiley-Blackwell Publishing, 2011. – 436 p.
2. Halliwell B. Gutteridge J.M.C. Free radicals in biology and medicine: fourth edition / Oxford: University press, 2012. – 851p.
3. Yurkova, I.L. Free-radical reactions of glycerolipids and sphingolipids // Russian Chemical Reviews – 2012. – V. 81, № 2. – P. 175-190.

КАРНОЗИН В РЕГУЛИРОВАНИИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЙ ФРАГМЕНТАЦИИ ФОСФОЛИПИДОВ В МОДЕЛЬНЫХ МЕМБРАНАХ

Юркова И.Л., Шендикова Е.Н.

*Белорусский государственный университет, химический факультет,
Минск, Беларусь*

При взаимодействии активных форм кислорода (АФК) (HO^\cdot , $\text{O}_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , HClO) с амфифильными молекулами глицерофосфолипидов свободнорадикальные реакции могут протекать как в их гидрофобных (пероксидное окисление липидов, ПОЛ), так и в гидрофильных (свободно-радикальная фрагментация липидов, СРФЛ) частях [1, 2]. В результате ПОЛ происходит модификация гидрофобного фрагмента, процесс СРФЛ приводит к деструкции глицерофосфолипидов с разрывом фосфоэфирных связей и образованию фосфатидной кислоты.

При выборе антиоксидантной терапии или изучении антирадикальных свойств веществ основное внимание сосредоточено на коррекции ПОЛ, возможность развития процессов деструкции в полярной части биомембраны не учитывается. Целью данной работы было изучение влияния карнозина на фрагментацию димиристоилфосфатидилглицерина (ДМФГ) в липосомальных мембранах в условиях Fe^{2+} (Cu^{2+})-опосредованного генерирования радикалов HO^\cdot . Процесс фрагментации ДМФГ контролировали по накоплению молекулярного продукта, димиристоилфосфатидной кислоты (ДМФК), методом ВЭТСХ.

Карнозин (Кар) (β -аланил-L-гистидин) вовлекается в регулирование окислительного стресса в биосистемах [1, 3]. Дипептид содержится в организме человека во многих органах, но в высоких концентрациях представлен в скелетных мышцах (2-20 мМ) и обонятельных луковицах мозга (0,3-5 мМ).

Действие системы $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ на ДМФГ-липосомы индуцирует деструкцию фосфатидилглицерина с образованием ДМФК. Введение карнозина в липосомальную суспензию сопровождается снижением уровня ДМФК в ~ 1,4 раза в сравнении с контролем (см. рис. 1А). В то же время ДМФГ-липосомы, включающие Кар, оказались более устойчивы к действию системы $\text{Cu}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{аскорбат}$. В данных условиях концентрация ДМФК в присутствии Кар снижается более чем в два раза в сравнении с контролем (см. рис. 1Б).

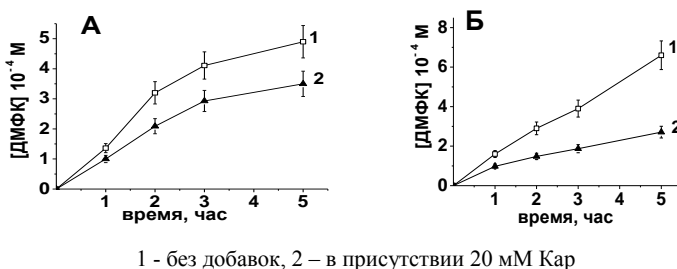


Рисунок – Накопление ДМФК в ДМФГ-липосомах (20 мМ), инкубированных при 37 °С с (А) $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ (1/10 мМ) и (Б) $\text{Cu}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ /аскорбат (0,5/10/0,5 мМ) в присутствии карнозина

Протекторное действие Кар на Cu^{2+} -опосредованную фрагментацию ДМФГ имеет концентрационно-зависимый характер. Степень деструкции ДМФГ уменьшается с увеличением концентрации (1-20 мМ) Кар в модельных фосфолипидных мембранах.

Ингибирующее действие Кар в случае Cu^{2+} -опосредованного процесса может быть обусловлено как его взаимодействием с радикалами HO^\bullet , так и хелатированием ионов меди [1,3]. В случае Fe^{2+} -опосредованной фрагментации протекторное действие Кар выражено слабее и, видимо, обусловлено только его радикал-акцепторными свойствами. Согласно работе [3] Кар не хелатирует ионы железа.

Мембранозащитное действие карнозина связывают с его способностью регулировать ПОЛ в неполярной части мембраны [1,3], причем его гидрофобные аналоги более эффективны, чем сам гидрофильный дипептид. Полученные результаты указывают на то, что карнозин способен контролировать АФК-опосредованные процессы в гидрофильном слое мембраны, что может играть роль в механизме его кардио-, гепато- и нейропротекторного действия в биосистемах [1].

Литература:

1. Halliwell B. Gutteridge J.M.C. Free radicals in biology and medicine: fourth edition / Oxford: University press, 2012. – 851p.
2. Yurkova, I.L. Free-radical reactions of glycerolipids and sphingolipids // Russian Chemical Reviews – 2012. – V. 81, № 2. – P. 175-190.
3. Decker E.A., Crum A.D., Calvert J.T. Differences in the antioxidant mechanism of carnosine in the presence of copper and iron // J. Agric. Food Chem. – 1992. – V. 40. – P. 756–759.

ИМЕННОЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Azmukhanova R.R., 42
 Baidak A., 3
 Bryukhanov A.L., 5
 Budnikova Y.G., 42
 Burilov A.R., 42
 Czuba Z.P., 43, 45
 Demidchik V.V., 7, 44, 46
 Dolla A., 5
 Drozd M., 45
 Duff J., 3
 Gibadullina E.M., 42
 Krol W., 43, 45
 Parker-Quaife E., 3
 Pimblott S.M., 3
 Pimenov N.V., 5
 Przhivalskaya D.A., 44, 46
 Seget S., 43, 45
 Sims H., 3
 Svistunenko D.A., 44
 Zvanarou S.A., 46
 Абрамов А.А., 10
 Адзериho И.Э., 133
 Азарко И.И., 70
 Айдарханова Г.С., 47
 Амазгбери Н.В., 29
 Амитина С.А., 37
 Андреев В.П., 85
 Анисович М.В., 127
 Бараев В.А., 49
 Баскалова Ю.О., 49
 Батулев А.В., 87, 93
 Белевич Е.И., 51
 Белостоцкая И.С., 9, 62, 64
 Бельков М.В., 143, 145
 Беляева Г.В., 118, 120
 Беляева Т.В., 120
 Березянко И.А., 49
 Бореко Е.И., 53, 55
 Бринкевич С.Д., 7, 145
 Брусков В.И., 57
 Бубенчиков Р.А., 61
 Бубенчикова В.Н., 59, 94, 139
 Буравлева К.В., 23
 Варакса Т.С., 149
 Васильев В.Б., 31, 98
 Вахрушева Т.В., 27
 Власенко А.Ю., 83
 Вольева В.Б., 9, 62, 64
 Воропаев Е.В., 35
 Вчерашняя А.В., 112
 Гаас Н.А., 37
 Галиновская Н.В., 35
 Гармаза Ю.М., 66, 68
 Головач Н.Г., 103
 Гончаров Н.Н., 61
 Горбачевич Г.И., 70
 Горева Д.А., 25
 Гореньков В.Ф., 72, 74, 76
 Гореньков С.В., 72, 76
 Горудко И.В., 27, 79, 81, 83, 91
 Григорьева Д.В., 27, 79, 81, 83, 91
 Грицук А.И., 115
 Грудина Н.А., 31
 Гудков С.В., 57
 Гужова И.В., 117
 Деева А.М., 40
 Демидов Д.И., 85
 Демидчик В.В., 87, 93, 147
 Домнина Н.С., 9
 Донская И.И., 93
 Дубовик Б.В., 152
 Едимечева И.П., 33, 49, 131, 135
 Ермишкин В.В., 10
 Жабинский В.Н., 127
 Жигунова Л.Н., 88
 Завадская О.А., 90
 Заводник И.Б., 103
 Захарова Е.Т., 31, 98

- Зорин В.П., 154
Зубрицкая Г.П., 66
Иванов В.А., 91
Иванов В.Е., 57
Индюкова Н.А., 141
Исайчикова Я.А., 131
Камышников В.С., 122
Канаш Ю.С., 66, 68
Кандалинцева Н.В., 37
Капелько В.И., 10
Капустин М.А., 158
Карп О.Э., 57
Касько Л.П., 110
Квачева З.Б., 29
Киселев П.А., 12, 122, 127
Кисель М.А., 147
Ковальчук Т.В., 70
Кожина Ж.М., 47
Колбанов Д.В., 93
Комиссарова Н.Л., 9, 62, 64
Кондратова Ю.А., 94
Кособуцкий В.С., 96
Костевич В.А., 27, 31, 79, 91, 98
Костин Д.Г., 51, 68
Костюк В. А., 14
Котович И.Л., 99
Кохнович Н.Н., 122
Круглей Н.С., 72
Крылова Н.Г., 101, 103
Ксендзова Г.А., 70, 105, 143
Кузовков П.В., 107
Кулагова Т.А., 101, 103
Кулинкина А.Н., 108
Курковская Л.Н., 64
Курченко В.П., 158
Кутько А.Г., 66, 68
Лазарев В.Ф., 117
Лакомкин В.Л., 10
Ланкин В.З., 16
Левченко В.Н., 59
Легерова Е.О., 93
Лешкова К.Д., 133
Липская Е.А., 35
Лисовская А.Г., 18, 29, 108, 129, 147
Лисовский К.Ю., 96
Логина Н.В., 70
Лукошкова Е.В., 10
Лукьяненко Л.М., 110
Луценко В.Е., 83
Мажукин Д.Г., 37
Малкова А.В., 62
Маргулис Б.А., 117
Маренкова Я.А., 133
Мartiнович Г.Г., 21, 112
Мartiнович И.В., 112
Маслова Г.Т., 162
Мацкевич В.А., 91
Медведский И.Н., 114
Мечковская Е.В., 133
Михальчик Е.В., 91
Мозолевская А.А., 87
Мурина М.А., 23
Надольник Л.И., 25, 85, 160
Насекайло В.А., 135
Нгуен В.Т., 74
Никитина И.А., 115
Никотина А.Д., 117
Ничипор Г.В., 88
Новикова Л.С., 118, 120
Овсянникова М.Н., 64
Орешко Н. А., 122
Осипович Н.П., 70
Островская Н.И., 125
Панасенко О.М., 27, 79, 81, 91
Панибрат О.В., 127
Парахина О.В., 120
Пашковская И.Д., 154
Петрашевская Т.В., 70
Попова Н.Р., 57
Потапович А. И., 14
Похолок Т.В., 62
Прокашева В.А., 108, 129
Прокофьева Т.И., 64
Проценко К.О., 129
Рощупкин Д.И., 23
Рудая Е.В., 68, 90

- Рутковская Ж.А., 99
Самович С.Н., 105, 131, 145
Свердлов Р.Л., 49, 137, 141
Семенкова Г.Н., 29, 101, 133
Сергеева О.Ю., 9
Сергиенко В.И., 23
Сидоров А.В., 162
Скоробогатова А.С., 110
Сладкова А.А., 18, 135
Слобожанина Е.И., 51, 66, 68
Соколик А.И., 87
Соколов А.В., 27, 31, 79, 81, 83, 91, 98
Сорокин В.Л., 105, 143
Сосновская А.А., 33
Станишевский С.Б., 137
Стародубцева М.Н., 35, 115
Старчак Ю.А., 139
Таганович А.Д., 99
Тамашевский А.В., 68
Телегина Т.В., 76
Телегов Ю.И., 141
Тен Ю.А., 37
Тихазе А.К., 16
Толсторожев Г.Б., 143, 145
Тюркина Е.П., 87, 147
Ундровинас Н.А., 10
Усачева А.М., 57
Фалетров Я.В., 70, 90
Филипцова Г.Г., 149
Фроленков К.А., 53, 55, 151, 152
Фролова Н.С., 68, 90
Хапчаев А.Ю., 10
Хлудеев И.И., 154
Хорушкин В.В., 68
Хрипач В.А., 127
Царенкова В.В., 156
Чайкун С.А., 93
Черенкевич С.Н., 21, 27, 79, 81, 83, 112
Черников А.В., 57
Чешиев В.Т., 103
Чубарова А.С., 158
Чумаченко С.С., 25, 85, 160
Шадыро О.И., 18, 29, 33, 39, 49, 53, 55, 105, 107, 108, 112, 125, 129, 131, 135, 137, 141, 143, 145, 147
Шамова Е.В., 79, 81
Шевцова О.В., 88
Шелковская О.В., 57
Шендикова Е.Н., 164, 166
Ширинский В.П., 10
Шиш С.Н., 40
Шкуматов В.М., 68, 90
Шорманов В.К., 120
Шпановская С.И., 156
Шумейко Ю.М., 74
Шуриберко А.В., 160
Шутова А.Г., 40
ЭльРахал А., 162
Юрага Т.М., 122
Юрин В.М., 149
Юркова И.Л., 164, 166
Якимовец О.Н., 131
Яцевич О.Н., 133

СОДЕРЖАНИЕ

Тезисы докладов Пленарного заседания

<i>Baidak A., Duff J., Sims H., Parker-Quaife E., Pimblott S.M.</i> DEVELOPING EXPERIMENTAL CAPABILITY FOR INVESTIGATION OF FREE RADICAL PROCESSES UNDER LIGHT WATER REACTOR OPERATING CONDITIONS	3
<i>Bryukhanov A.L., Pimenov N.V., Dolla A.</i> HOW DO ANAEROBIC SULFATE-REDUCING BACTERIA COPE WITH OXIDATIVE STRESSES?	5
<i>Demidchik V.V.</i> OXIDATIVE STRESS IN PLANTS: UPDATE ON MOLECULAR AND CELLULAR MECHANISMS	7
<i>Бринкевич С.Д.</i> ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ, ФЕНИЛПРОПАНОИДЫ И ПРОИЗВОДНЫЕ ТРИПТОФАНА В РЕГУЛЯЦИИ СВОБОДНО- РАДИКАЛЬНЫХ ПРЕВРАЩЕНИЙ ГИДРОКСИЛСОДЕРЖАЩИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ	7
<i>Домнина Н.С., Сергеева О.Ю., Вольева В.Б., Белостоцкая И.С., Комиссарова Н.Л.</i> ГИБРИДНЫЕ МАКРОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ	9
<i>Капелько В.И., Лакомкин В.Л., Лукошкова Е.В., Ундровинас Н.А., Хапчаев А.Ю., Абрамов А.А., Ермишкин В.В., Ширинский В.П.</i> АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА МИОКАРДА ПОСРЕДСТВОМ ГЛУТАТИОНИЛИРОВАНИЯ	10
<i>Киселев П.А.</i> АКТИВИРОВАННЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА В МОНООКСИГЕНАЗНОМ ПРОЦЕССЕ	12
<i>Костюк В.А., Потапович А.И.</i> СТРУКТУРА, КЛАССИФИКАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРИРОДНЫХ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ	14
<i>Ланкин В.З., Тихазе А.К.</i> ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ И КАРБОНИЛЬНЫЙ СТРЕСС ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ И ДИАБЕТЕ	16
<i>Лисовская А.Г., Сладкова А.А., Шадыро О.И.</i> СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ ДЕСТРУКЦИИ АМИНОСОДЕРЖАЩИХ БИОМОЛЕКУЛ	18

<i>Мартинovich Г.Г., Черенкевич С.Н.</i> РЕДОКС-СИГНАЛИЗАЦИЯ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ: БИОФИЗИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ	21
<i>Мурина М.А., Роциупкин Д.И., Буравлева К.В., Сергиенко В.И.</i> РЕГУЛЯЦИЯ ФУНКЦИЙ ТРОМБОЦИТОВ РЕАКТИВНЫМИ ОКСИДАНТАМИ ХЛОРАМИНОВОЙ ПРИРОДЫ	23
<i>Надольник Л.И., Горева Д.А., Чумаченко С.С.</i> РОЛЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В НАРУШЕНИИ ФУНКЦИИ КЛЕТОК ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	25
<i>Панасенко О.М., Вахрушева Т.В., Григорьева Д.В., Горудко И.В., Соколов А.В., Костевич В.А., Черенкевич С.Н.</i> МОДИФИКАЦИЯ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ В УСЛОВИЯХ, МОДЕЛИ- РУЮЩИХ ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ/ГАЛОГЕНИРУЮЩИЙ СТРЕСС	27
<i>Семенкова Г.Н., Амазгбери Н.В., Лисовская А.Г., Квачева З.Б., Шадыро О.И.</i> МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ 2-ГЕКСАДЕЦЕНАЛЯ НА ФУНКЦИИ АСТРОГЛИИ	29
<i>Соколов А.В., Костевич В.А., Грудинина Н.А., Захарова Е.Т., Васильев В.Б.</i> ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФАКТОРА ИНГИБИРУЮЩЕГО МИГРАЦИЮ МАКРОФАГОВ С ЦЕРУЛОПЛАЗМИНОМ	31
<i>Сосновская А.А., Едимечева И.П., Шадыро О.И.</i> РАЗРАБОТКА НОВЫХ МЕТОДОВ СТАБИЛИЗАЦИИ И ТЕХНОЛОГИЙ ПРОИЗВОДСТВА ЛЬНЯНОГО МАСЛА И БАД НА ЕГО ОСНОВЕ	33
<i>Стародубцева М.Н., Галиновская Н.В., Липская Е.А., Воронаев Е.В.</i> КОНЦЕНТРАЦИЯ ПО МЕТАБОЛИТОВ В КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ПРЕХОДЯЩИХ НАРУШЕНИЯХ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ	35
<i>Тен Ю.А., Амитина С.А., Гаас Н.А., Кандалинцева Н.В., Мажукин Д.Г.</i> СИНТЕЗ СТАБИЛЬНЫХ ФЕНОКСИЛ-НИТРОКСИЛЬНЫХ РАДИКАЛОВ И ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ИХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ, ПРОИЗВОДНЫХ ИМИДАЗОЛА С <i>n</i> -ГИДРОКСИАРИЛЬНЫМ ЗАМЕСТИТЕЛЕМ	37
<i>Шадыро О.И.</i> УРОВЕНЬ КИСЛОРОДА И СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В БИОСИСТЕМАХ	39
<i>Шутова А.Г., Шиш С.Н., Деева А.М.</i> ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ РАСТЕНИЙ КАК АНТИОКСИДАНТЫ, ИХ ИЗМЕНЕНИЯ В ОНТОГЕНЕЗЕ И ПРИ ОБРАБОТКЕ СТИМУЛЯТОРАМИ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ	40

Тезисы докладов Стендовой сессии

<i>Azmukhanova R.R., Gibadullina E.M., Burilov A.R., Budnikova Y.G.</i> NEW ANTIOXIDANTS BASED ON PHOSPHORUS-CONTAINING HINDERED PHENOLS	42
<i>Czuba Z.P., Seget S., Krol W.</i> ETHANOLIC EXTRACT OF POLISH PROPOLIS (EEP) IN REACTION WITH FREE RADICALS.....	43
<i>Demidchik V.V., Przhivalskaya D.A., Svistunenko D.A.</i> SILVER NANOPARTICLES DO NOT CATALYSE HABER-WEISS CYCLE BUT THEY OXIDISE ASCORBATE BOTH IN VITRO AND IN VIVO.....	44
<i>Seget S., Drozd M., Czuba Z.P., Krol W.</i> REACTION OF CHOSEN COMPOUNDS FOUNDED IN EEP WITH FREE RADICALS	45
<i>Zvanarou S.A., Przhivalskaya D.A., Demidchik V.V.</i> SALINITY INDUCES PRODUCTION OF SUPEROXIDE ANION RADICALS IN <i>PHYSCOMITRELLA PATENS</i>	46
<i>Айдарханова Г.С., Кожина Ж.М.</i> БИОРАЗНООБРАЗИЕ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ ЦЕНТРАЛЬНО-КАЗАХСКОГО МЕЛКОСОПОЧНИКА – ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ИСТОЧНИКИ ПРИРОДНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ.....	47
<i>Бараев В.А., Березянко И.А., Баскалова Ю.О., Свердлов Р.Л., Едимечева И.П., Шадыро О.И.</i> ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПИРИМИДИНОВЫХ АЗОТИСТЫХ ОСНОВАНИЙ С РАДИКАЛЬНЫМИ ПРОДУКТАМИ γ –РАДИОЛИЗА ДЕАЭРИРОВАННОГО ЭТАНОЛА	49
<i>Белевич Е.И., Костин Д.Г., Слобожанина Е.И.</i> ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС В ЭРИТРОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА И АКТИВАЦИЯ КАСПАЗЫ-3	51
<i>Бореко Е.И., Шадыро О.И., Фроленков К.А.</i> ПРОТИВОГЕРПЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ N-АЦИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 2-АМИНО-4,6-ДИ-ТРЕТ-БУТИЛФЕНОЛА НА КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК	53
<i>Бореко Е.И., Шадыро О.И., Фроленков К.А.</i> ПРОТИВОГЕРПЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ N-(3,5-ДИ-ТРЕТ-БУТИЛ-2-ГИДРОКСИФЕНИЛ)АЦЕТАМИДА В ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ	55

Брусков В.И., Иванов В.Е., Карп О.Э., Попова Н.Р., Усачева А.М., Черников А.В., Шелковская О.В., Гудков С.В. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И ЕГО ПОСЛЕДСТВИЯ ПРИ СОВМЕСТНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНОВ УРАНИЛА И ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ.....	57
Бубенчикова В.Н., Левченко В.Н. АЗОТИСТЫЕ ОСНОВАНИЯ ХОНДРИЛЛЫ СИТНИКОВИДНОЙ (<i>CHONDRILLA JUNCEA L.</i>).....	59
Бубенчиков Р.А., Гончаров Н.Н. ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ КУЛЬБАБЫ ОСЕННЕЙ	61
Вольева В.Б., Белостоцкая И.С., Комиссарова Н.Л., Малкова А.В., Похолок Т.В. АНТИРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ 1,3-ДИОКСОЛАНОВ	62
Вольева В.Б., Белостоцкая И.С., Комиссарова Н.Л., Курковская Л.Н., Прокофьева Т.И., Овсянникова М.Н. АВТОИНГИБИРОВАНИЕ ОКИСЛЕНИЯ 3,5-ДИ-ТРЕТ- БУТИЛСАЛИЦИЛОВОГО АЛЬДЕГИДА В 3,5-ДИ-ТРЕТ- БУТИЛСАЛИЦИЛОВУЮ КИСЛОТУ	64
Гармаза Ю.М., Зубрицкая Г.П., Кутько А.Г., Канаиш Ю.С., Слобожанина Е.И. СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ДЕФИЦИТА ЦИНКА <i>IN VITRO</i>	66
Гармаза Ю.М., Рудая Е.В., Кутько А.Г., Канаиш Ю.С., Костин Д.Г., Тамашевский А.В., Фролова Н.С., Хорушкин В.В., Шкуматов В.М., Слобожанина Е.И. ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И ОСТАТКОВ ЦИСТЕИНА В БЕЛКОВО-ЛИПИДНОЙ И БЕЛКОВО-АМИНОКИСЛОТНОЙ КОРМОВЫХ ДОБАВКАХ	68
Горбачевич Г.И., Фалетров Я.В., Логинова Н.В., Ковальчук Т.В., Петрашевская Т.В., Осипович Н.П., Ксендзова Г.А., Азарко И.И. РЕДОКС-АКТИВНЫЕ КОМПЛЕКСЫ МЕДИ(II) И ЦИНКА(II) С ОСНОВАНИЯМИ МАННИХА	70
Гореньков В.Ф., Гореньков С.В., Круглей Н.С. ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ МОЛДОВЫ НА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ РЫНКЕ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ	72
Гореньков В.Ф., Нгуен В.Т., Шумейко Ю.М. ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ ПОЛЬШИ НА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ РЫНКЕ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ	74

<i>Гореньков В.Ф., Телегина Т.В., Гореньков С.В.</i> ЭВОЛЮЦИЯ СТРАТЕГИЧЕСКОГО УПРАВЛЕНИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИМ БИЗНЕСОМ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ.....	76
<i>Горудко И.В., Григорьева Д.В., Шамова Е.В., Соколов А.В., Костевич В.А., Панасенко О.М., Черенкевич С.Н.</i> ТРАНСДУКЦИЯ СИГНАЛА В НЕЙТРОФИЛАХ ПРИ ДЕЙСТВИИ ГАЛОГЕНИРОВАННОГО АЛЬБУМИНА.....	79
<i>Григорьева Д.В., Горудко И.В., Соколов А.В., Шамова Е.В., Черенкевич С.Н., Панасенко О.М.</i> РОЛЬ ЦИТОСКЕЛЕТА В ИНДУЦИРОВАННОЙ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗОЙ ДЕГРАДУЛЯЦИИ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ВОСПАЛЕНИИ	81
<i>Григорьева Д.В., Луценко В.Е., Власенко А.Ю., Горудко И.В., Черенкевич С.Н., Соколов А.В.</i> ЛАКТОФЕРРИН С ОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТОЙ ИНДУЦИРУЕТ ГЕМОЛИЗ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА	83
<i>Демидов Д.И., Чумаченко С.С., Андреев В.П., Надольник Л.И.</i> АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА МИТОХОНДРИЙ МОЗГА КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ХРОНИЧЕСКОГО ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА.....	85
<i>Демидчик В.В., Тюркина Е.П., Мозолева А.А., Батулев А.В., Соколик А.И.</i> ЭФФЕКТ L-АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА СИСТЕМУ КАЛЬЦИЕВОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ	87
<i>Жигунова Л.Н., Ничипор Г.В., Шевцова О.В.</i> ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АКЦЕПТОРОВ ЗАРЯДА НА ПРОЦЕСС РАДИАЦИОННО-ХИМИЧЕСКОГО КАРБОКСИЛИРОВАНИЯ СИСТЕМЫ ИНДОЛ – СЕРИН.....	88
<i>Завадская О.А., Фалетров Я.В., Рудая Е.В., Фролова Н.С., Шкуматов В.М.</i> РАЗРАБОТКА АНАЛИЗА АМИНОКИСЛОТ СЕРИНА И ГЛИЦИНА МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА.....	90
<i>Иванов В.А., Михальчик Е.В., Горудко И.В., Григорьева Д.В., Соколов А.В., Костевич В.А., Мацкевич В.А., Панасенко О.М.</i> ВЛИЯНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ И ПЕРЕХВАТЧИКОВ ГИПОГАЛОИДНЫХ КИСЛОТ НА АКТИВАЦИЮ НЕЙТРОФИЛОВ ЛИПОПРОТЕИНАМИ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ, МОДИФИЦИРОВАННЫМИ В УСЛОВИЯХ, МОДЕЛИРУЮЩИХ ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ/ГАЛОГЕНИРУЮЩИЙ СТРЕСС	91

<i>Колбанов Д.В., Батулев А.В., Легерова Е.О., Донская И.И., Чайкун С.А., Демидчик В.В.</i> ВОЗДЕЙСТВИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ НА УКОРЕНЕНИЕ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ САЖЕНЦЕВ ДЕКОРАТИВНЫХ ХВОЙНЫХ РАСТЕНИЙ	93
<i>Кондратова Ю.А., Бубенчикова В.Н.</i> ТРИТЕРПЕНОВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ РАСТЕНИЙ РОДА ШАЛФЕЙ.....	94
<i>Кособуцкий В.С., Лисовский К.Ю.</i> О ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ГИПОХЛОРИТА С НЕКОТОРЫМИ БИОРАДИКАЛАМИ.....	96
<i>Костевич В.А., Соколов А.В., Захарова Е.Т., Васильев В.Б.</i> ЭКЗОГЕННЫЙ АПО-ЛАКТОФЕРРИН, ВВЕДЕННЫЙ ГРЫЗУНАМ ВО ВРЕМЯ ЛАКТАЦИИ, ВЫЗЫВАЕТ СТАБИЛИЗАЦИЮ ГИПОКСИЯ ИНДУЦИБЕЛЬНЫХ ФАКТОРОВ-1/2А У САМОК И ПОТОМСТВА	98
<i>Котович И.Л., Рутковская Ж.А., Таганович А.Д.</i> ИЗМЕНЕНИЕ ПРОТЕАЗНО-АНТИПРОТЕАЗНОГО БАЛАНСА В ЛЕГКИХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРОКСИИ И ЕГО КОРРЕКЦИЯ	99
<i>Крылова Н.Г., Кулагова Т.А., Семенкова Г.Н.</i> ХИНОНОПОСРЕДОВАННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В МИТОХОНДРИЯХ КЛЕТОК ГЛИОМЫ	101
<i>Крылова Н.Г., Чецевик В.Т., Головач Н.Г., Кулагова Т.А., Заводник И.Б.</i> СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕХАНИЗМОВ РЕДОКС-РЕГУЛЯЦИИ МИТОХОНДРИЙ НОРМАЛЬНЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК	103
<i>Ксендзова Г.А., Самович С.Н., Сорокин В.Л., Шадыро О.И.</i> ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ И СИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ КОРИЧНОЙ КИСЛОТЫ НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ ЭТАНОЛА	105
<i>Кузовков П.В., Шадыро О.И.</i> АССОЦИАЦИЯ КАТИОН-РАДИКАЛОВ ПОРФИРИНОВ С АНИОНАМИ ХЛОРА.....	107
<i>Кулинкина А.Н., Лисовская А.Г., Прокашева В.А., Шадыро О.И.</i> СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ ДЕСТРУКЦИИ ФОСФАТИДИЛЭТАНОЛАМИНА И СФИНГОЗИН-1-ФОСФАТА	108
<i>Лукьяненко Л.М., Скоробогатова А.С., Касько Л.П.</i> О ВОЗМОЖНОСТИ ВЛИЯНИЯ АЛЮМИНИЯ НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ЭРИТРОЦИТАХ БЕРЕМЕННЫХ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА.....	110

<i>Мартинович Г.Г., Мартинович И.В., Вчерашняя А.В., Шадыро О.И., Черенкевич С.Н.</i> БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЙ КОМПОНЕНТ <i>NIGELLA SATIVA</i> ТИМОХИНОН ИНДУЦИРУЕТ ГИБЕЛЬ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ЧЕРЕЗ МИТОХОНДРИАЛЬНО-ОПОСРЕДОВАННЫЙ ПУТЬ	112
<i>Медведский И.Н.</i> МЕМБРАНОТРОПНЫЙ И ПРООКСИДАНТНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ПРОСТРАНСТВЕННО ЭКРАНИРОВАННЫХ ФЕНОЛОВ	114
<i>Никитина И.А., Стародубцева М.Н., Грицук А.И.</i> ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОЛОГИИ ТИМОЦИТОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА, ВЫЗВАННОГО ФАКТОРАМИ РАЗНОЙ ПРИРОДЫ	115
<i>Никитина А.Д., Лазарев В.Ф., Гужова И.В., Маргулис Б.А.</i> ВЛИЯНИЕ МАЛЫХ МОЛЕКУЛ НА УСТОЙЧИВОСТЬ КЛЕТОК К ОКИСЛИТЕЛЬНОМУ СТРЕССУ ЧЕРЕЗ СВЯЗЫВАНИЕ С ГЛИЦЕРАЛЬДЕГИД-3-ФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗОЙ	117
<i>Новикова Л.С., Беляева Г.В.</i> ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ НА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ РАБОТНИКОВ В ПЕРИОД ИХ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ	118
<i>Новикова Л.С., Шорманов В.К., Беляева Г.В., Парахина О.В., Беляева Т.В.</i> РАСШИРЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОЛЛАГЕНА В КАЧЕСТВЕ ВСПОМОГАТЕЛЬНОГО ВЕЩЕСТВА	120
<i>Орешко Н. А., Киселев П.А., Юрага Т.М., Кохнович Н.Н., Камышиников В.С.</i> РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СУБСТАНЦИЙ ПРИРОДНОГО И СИНТЕТИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	122
<i>Островская Н.И., Шадыро О.И.</i> ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ГИДРОХИНОНА И 1,4-БЕНЗОХИНОНА НА РАДИАЦИОННО-ХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ОКИСЛЕНИЯ ГЕКСАНА И ЭТАНОЛА	125
<i>Панибрат О.В., Киселев П.А., Жабинский В.Н., Анисович М.В., Хрипач В.А.</i> ВЛИЯНИЕ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА, 28-ГОМОБРАССИНОЛИДА И ИХ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ НА УРОВЕНЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ОПУХОЛЕВОЙ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ А549 (КАРЦИНОМА ЛЕГКОГО)	127

Проценко К.О., Лисовская А.Г., Прокашева В.А., Шадыро О.И. ФОТОХИМИЧЕСКАЯ ДЕСТРУКЦИЯ СФИНГОЛИПИДОВ И МОДЕЛИРУЮЩИХ ИХ АМИНОСПИРТОВ В ПРИСУТСТВИИ ИОНОВ Со(II)	129
Самович С.Н., Исайчикова Я.А., Якимовец О.Н., Едимечева И.П., Шадыро О.И. ВЛИЯНИЕ БЕНЗОХИНОНОВ НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ДЕФОСФОРИЛИРОВАНИЕ ГЛИЦЕРО-1-ФОСФАТА	131
Семенкова Г.Н., Адзериho И.Э., Яцевич О.Н., Лешкова К.Д., Мечковская Е.В., Маренкова Я.А. РЕДОКС-АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ	133
Сладкова А.А., Насекайло В.А., Едимечева И.П., Шадыро О.И. ПОИСК РЕГУЛЯТОРОВ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЙ ДЕСТРУКЦИИ АМИНОСОДЕРЖАЩИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ	135
Станишевский С.Б., Свердлов Р.Л., Шадыро О.И. ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ИНДОЛА НА ИНДУЦИРОВАННОЕ ИОНИЗИРУЮЩИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ ДЕФОСФОРИЛИРОВАНИЕ ГЛИЦЕРО-1-ФОСФАТА	137
Старчак Ю.А., Бубенчикова В.Н. ИЗУЧЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ТИМЬЯНА ДВУЛИКОГО (<i>THYMUS DIMORPHUS KLOK. ET SCHOST.</i>)	139
Телегов Ю.И., Индюкова Н.А., Свердлов Р.Л., Шадыро О.И. ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ АМИНОВ НА ИХ СПОСОБНОСТЬ ИНГИБИРОВАТЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЭТАНОЛА	141
Толсторожев Г.Б., Бельков М.В., Шадыро О.И., Ксендзова Г.А., Сорокин В.Л. ИНФРАКРАСНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ В ВЫЯВЛЕНИИ АНТИВИРУСНОЙ АКТИВНОСТИ ФЕНОЛАЗОМЕТИНОВ	143
Толсторожев Г.Б., Бельков М.В., Шадыро О.И., Самович С.Н., Бринкевич С.Д. ИК ФУРЬЕ-СПЕКТРОСКОПИЯ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ БЕНЗАЛЬДЕГИДОВ	145
Тюркина Е.П., Лисовская А.Г., Шадыро О.И., Кисель М.А., Демидчик В.В. ВОЗДЕЙСТВИЕ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ НА ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ	147

<i>Филипцова Г.Г., Варакса Т.С., Юрин В.М.</i> АНТИОКСИДАТНЫЕ СВОЙСТВА СИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА GMPEP890	149
<i>Фроленков К.А.</i> ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ N-(3,5-ДИ-ТРЕТ-БУТИЛ-2- ГИДРОКСИФЕНИЛ)АЦЕТАМИДА ДЛЯ МЫШЕЙ	151
<i>Фроленков К.А., Дубовик Б.В.</i> ОБЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ И ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ N-(3,5-ДИ- ТРЕТ-БУТИЛ-2-ГИДРОКСИФЕНИЛ)АЦЕТАМИДА ДЛЯ КРЫС	152
<i>Хлудеев И.И., Пашковская И.Д., Зорин В.П.</i> ВЛИЯНИЕ БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЯ СЕНСИБИЛИЗАТОРОВ НА ФОТООКИСЛИТЕЛЬНОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ.....	154
<i>Царенкова В.В., Шпановская С.И.</i> К ВОПРОСУ О ФОРМИРОВАНИИ ПРОФЕССИОНАЛЬНО-ИНОЯЗЫЧНОЙ ПОДГОТОВКИ СТУДЕНТОВ ХИМИЧЕСКИХ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СПЕЦИАЛЬНОСТЕЙ В РАМКАХ КОМПЕТЕНТНОСТНОГО ПОДХОДА	156
<i>Чубарова А.С., Капустин М.А., Курченко В.П.</i> МОДИФИКАЦИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ФЛАВОЛИГНАНОВ.....	158
<i>Шуриберко А.В., Чумаченко С.С., Надольник Л.И.</i> ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА НА АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ ЗАЩИТЫ И ПОЛ БУРОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ КРЫС	160
<i>ЭльРахал А., Маслова Г.Т., Сидоров А.В.</i> ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ МОЛЛЮСКА <i>LYMNAEA STAGNALIS</i>	162
<i>Юркова И.Л., Шендикова Е.Н.</i> ВЛИЯНИЕ ЦИСТЕИН-СОДЕРЖАЩИХ ПЕПТИДОВ НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ДЕФОСФОРИЛИРОВАНИЕ ГЛИЦЕРОФОСФАТА.....	164
<i>Юркова И.Л., Шендикова Е.Н.</i> КАРНОЗИН В РЕГУЛИРОВАНИИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЙ ФРАГМЕНТАЦИИ ФОСФОЛИПИДОВ В МОДЕЛЬНЫХ МЕМБРАНАХ	166
ИМЕННОЙ УКАЗАТЕЛЬ	168

Научное издание

**СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ
В ХИМИИ И ЖИЗНИ**

Сборник тезисов докладов Международной конференции
Минск, 25—26 июня 2015 г.

**FREE RADICALS IN
CHEMISTRY AND LIFE**

Book of Abstracts of the International Conference
Minsk, June 25—26, 2015

На русском и английском языках

В авторской редакции

Ответственный за выпуск *О. И. Шадыро*
Компьютерная верстка *А. Г. Лисовской*

Подписано в печать 08.06.2015. Формат 60 x 84¹/₁₆. Бумага офсетная.
Ризография. Усл. печ. л. 10,46. Уч.-изд. л. 9,16.
Тираж 120 экз. Заказ 341.

Республиканское унитарное предприятие
«Издательский центр Белорусского государственного университета».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/159 от 27.01.2014.
Ул. Красноармейская, 6, 220030, Минск.

Отпечатано с оригинала-макета заказчика
в республиканском унитарном предприятии
«Издательский центр Белорусского государственного университета».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 2/63 от 19.03.2014.
Ул. Красноармейская, 6, 220030, Минск.